

N° d'Ordre : Série E, n° 62

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTE DE PHARMACIE DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR EN PHARMACIE (DOCTORAT D'ÉTAT)

PAR

Guy FAUGERAS

PHARMACIEN

LICENCIÉ ÈS-SCIENCES

EX-INTERNE DES HOPITAUX DE PARIS

DIPLOMÉ DE MICROBIOLOGIE, SÉROLOGIE, HÉMATOLOGIE ET PARASITOLOGIE

1^{re} THÈSE. — CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES ALCALOÏDES ET DES
FLAVONOÏDES CHEZ QUELQUES GÉNISTÉES INDIGÈNES, A
L'AIDE DE L'ÉLECTROPHORÈSE.

2^e THÈSE. — PROPOSITION DONNÉE PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le mai 1956, devant la Commission d'examen

Président.....	M. R. PARIS, Président.
Examineurs. . {	M ^{lle} S. LAMBIN, Professeur.
	M. L. DOMANGE, Professeur.

PARIS
EDITIONS ANDRÉ LESOT
1956

FACULTÉ DE PHARMACIE DE PARIS

Nom du candidat : **FAUGERAS.**

Prénom : **Guy.**

Date de la soutenance : mai 1956.

Numéro d'ordre : Série E N° 62.

FAUGERAS (Guy). — Contribution à l'étude des alcaloïdes et flavonoïdes chez quelques génistées indigènes à l'aide de l'électrophorèse. Paris, 1956, Editions André Lesot, 120 p., 20 fig., in-8°.

Th. Doct. État Pharm. Paris, 1956, N° 62.

FAUGERAS (Guy). — Contribution à l'étude des alcaloïdes et flavonoïdes chez quelques génistées indigènes à l'aide de l'électrophorèse. Paris, 1956, Editions André Lesot, 120 p., 20 fig., in-8°.

Th. Doct. État Pharm. Paris, 1956, N° 62.

FAUGERAS (Guy). — Contribution à l'étude des alcaloïdes et flavonoïdes chez quelques génistées indigènes à l'aide de l'électrophorèse. Paris, 1956, Editions André Lesot, 120 p., 20 fig., in-8°.

Th. Doct. État Pharm. Paris, 1956, N° 62.

FAUGERAS (Guy). — Contribution à l'étude des alcaloïdes et flavonoïdes chez quelques génistées indigènes à l'aide de l'électrophorèse. Paris, 1956, Editions André Lesot, 120 p., 20 fig., in-8°.

Th. Doct. État Pharm. Paris, 1956, N° 62.

FACULTÉ DE PHARMACIE DE PARIS

Nom du candidat : FAUGERAS.

Prénom : Guy.

Date de la soutenance : mai 1956.

Numéro d'ordre : Série E N° 62.

FAUGERAS (Guy). — Contribution à l'étude des alcaloïdes et flavonoïdes chez quelques génistées indigènes à l'aide de l'électrophorèse. Paris, 1956, Editions André Lesot, 120 p., 20 fig., in-8°.

Th. Doct. État Pharm. Paris, 1956, N° 62.

FAUGERAS (Guy). — Contribution à l'étude des alcaloïdes et flavonoïdes chez quelques génistées indigènes à l'aide de l'électrophorèse. Paris, 1956, Editions André Lesot, 120 p., 20 fig., in-8°.

Th. Doct. État Pharm. Paris, 1956, N° 62.

FAUGERAS (Guy). — Contribution à l'étude des alcaloïdes et flavonoïdes chez quelques génistées indigènes à l'aide de l'électrophorèse. Paris, 1956, Editions André Lesot, 120 p., 20 fig., in-8°.

Th. Doct. État Pharm. Paris, 1956, N° 62.

FAUGERAS (Guy). — Contribution à l'étude des alcaloïdes et flavonoïdes chez quelques génistées indigènes à l'aide de l'électrophorèse. Paris, 1956, Editions André Lesot, 120 p., 20 fig., in-8°.

Th. Doct. État Pharm. Paris, 1956, N° 62.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41550221_0035

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTE DE PHARMACIE DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR EN PHARMACIE (DOCTORAT D'ÉTAT)

PAR

Guy FAUGERAS

PHARMACIEN

LICENCIÉ ÈS-SCIENCES

EX-INTERNE DES HOPITAUX DE PARIS

DIPLOMÉ DE MICROBIOLOGIE, SÉROLOGIE, HÉMATOLOGIE ET PARASITOLOGIE

1^{re} THÈSE. — CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES ALCALOÏDES ET DES
FLAVONOÏDES CHEZ QUELQUES GÉNISTÉES INDIGÈNES, A
L'AIDE DE L'ÉLECTROPHORÈSE.

2^e THÈSE. — PROPOSITION DONNÉE PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le mai 1956, devant la Commission d'examen

<i>Président</i>	M. R. PARIS, Président.
<i>Examineurs</i> ..	Mlle S. LAMBIN, Professeur.
	M. L. DOMANGE, Professeur.

PARIS
EDITIONS ANDRÉ LESOT
1956

PERSONNEL DE LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE PARIS

ADMINISTRATION

MM.	René FABRE		Doyen, Membre de l'Institut, C. ✱, O I.
	R. DELABY		Assesseur, O. ✱, O I.
	G. CUVIER		Secrétaire Général, ✱, O I.
	J. JEANDEL		Secrétaire, O I.
	A. QUILLIOT		Rédacteur.
Mlle	M. DENNY		Rédactrice.
Mme	M.-L. ESPINASSE	...	Rédactrice, O A.

PROFESSEURS

MM.	FABRE, C. ✱, O I.	Toxicologie.
	DELABY, O. ✱, O I. ..	Pharmacie chimique.
	PICON, O. ✱, O I.	Chimie minérale.
	MASCRÉ, O. ✱, O I.	Botanique.
	JANOT, ✱, O I.	Pharmacie galénique.
	CHARONNAT, ✱, O I.	Chimie organique.
	VALETTE, ✱, O I.	Pharmacodynamie.
	BEDEL, ✱, O I.	Législation, Déontologie et Histoire de la Pharmacie.
	PARIS, ✱, O I.	Histoire naturelle des Médicaments simples d'origine végétale.
	GUILLOT, ✱, O I.	Physique.
	GAUTIER, ✱, O I.	Chimie analytique.
	LAMBIN (Mlle), ✱, O I.	Microbiologie.
	RAOUL, O A.	Zoologie appliquée.
	COURTOIS, ✱, O I.	Chimie biologique.
	DOMANGE, ✱, O I.	Hydrologie et Hygiène.
	CRÉTÉ, O I.	Professeur à titre personnel.
	CAVIER, O A.	
	MORETTE, ✱, O I.	Professeurs sans chaire
	TRUHAUT, ✱, O I.	

Doyen honoraire : M. RADAIS, C. , O I.

Professeurs honoraires :	MM. DELEPINE, C. ✱, O I.	Membres de l'Institut.
	LEBEAU, C. ✱, O I.	
	HÉRISSEY, C. ✱, O I.	
	LAUNOY, O. ✱, O I.	
	FLEURY, O. ✱, O I.	

MAÎTRES DE CONFÉRENCES

MM.	MOREAU, O A.	Sciences physiques et chimiques.
	GUY, O A.	Sciences physiques et chimiques.
	GERMAN, O A.	Sciences naturelles.
	PIETTE, O A.	Sciences naturelles.
	QUEVAUVILLER, O A.	Sciences naturelles.
	DAMIENS	Sciences physiques et chimiques.
	DEYSSON, O A.	Sciences naturelles.
	MALANGEAU	Sciences appliquées.

CHEFS DES TRAVAUX PRATIQUES

MM.	CORRIEZ, O I.	Physique.
	HARISPE, O A.	Chimie générale et pharmaceutique.
	MANGEOT, O A.	T. P. 4 ^e année.
	SAVEL	Biologie animale.
	RENAULT H., O A.	Chimie analytique.
	DESVIGNES	Microbiologie.
	BORY	Sérologie.
	ROLLEN (Mlle).....	Biologie végétale.
	LECLERC	Chimie biologique.

INSTITUT DE PHARMACOTECHNIE ET DE PHARMACODYNAMIE

MM.	GOUTAREL, O A.	Pharmacotechnie galénique.
	WAROLIN	Pharmacotechnie chimique.
Mlle	MORIN	Pharmacodynamie.

BIBLIOTHÈQUE

Conservateur : M. GARNIER, ✱, O I.

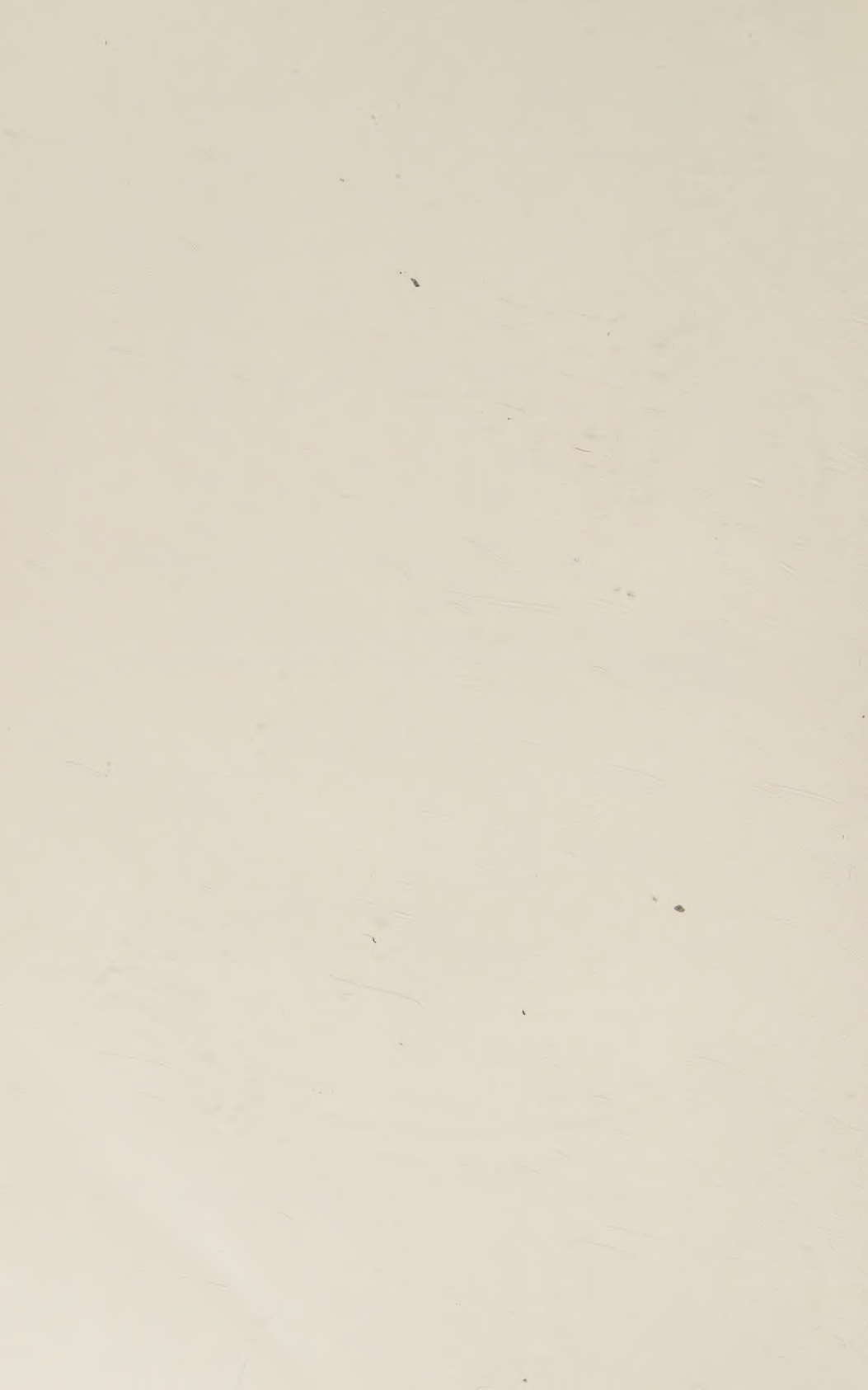
Bibliothécaires : Mlle LAVAUD, O I., Mme KREHMER, O A.



A Monsieur le Professeur R. PARIS

Qui m'a fait le grand honneur de diriger ces travaux.

Témoignage de profonde gratitude et de respectueuse reconnaissance.



A Mademoiselle le Professeur S. LAMBIN

Qui s'est toujours intéressée à mes études et a bien voulu faire partie de mon Jury.

Avec ma reconnaissance respectueuse.



A Monsieur le Professeur L. DOMANGE

Qui a accepté de juger ce travail.

Avec l'expression de mes sentiments reconnaissants.



A mes Parents,

A mes Grands-Parents,

A mon Frère et à ma Belle-sœur

Avec toute mon affection.



INTRODUCTION

Jusqu'à ces dernières années, l'étude des constituants des végétaux a été surtout statique. Même pour les espèces les plus employées et les mieux connues, les recherches ont généralement consisté, soit à inventorier les corps intéressants, soit à définir les meilleures conditions de leur extraction. Peu de travaux ont été consacrés à l'étude des transformations physiologiques dans la plante vivante. Pour les alcaloïdes et les flavonoïdes, il faut en chercher la raison dans les difficultés de séparation et de dosage de ces substances. En effet, les méthodes classiques sont longues et souvent délicates ; elles ne permettent pas toujours une séparation aisée des composés voisins et plus rarement encore leur dosage respectif. Enfin, elles obligent à utiliser des quantités importantes de matériel végétal, ce qui rend délicate une interprétation physiologique des résultats.

Des méthodes récentes ont porté remède à beaucoup de ces inconvénients. Parmi elles, la microchromatographie de partage sur papier a déjà été largement utilisée, mais l'électrophorèse n'avait encore trouvé aucune application dans ce domaine lorsque j'ai commencé ce travail. J'ai pensé qu'elle serait une technique des plus commodes pour arriver au but que je me proposais d'atteindre : suivre la répartition et les transformations de certains constituants d'un groupe homogène de plantes.

Les Légumineuses indigènes de la tribu des Génistées ont été choisies parce qu'elles constituent le groupe le plus important de plantes à alcaloïdes de notre flore (à spartéine, lupanine, cytisine, anagrine etc.).

Ces espèces sont en outre intéressantes par leurs dérivés flavoniques (scoparoside, ulexoside, principes tinctoriaux de *Genista tinctoria* L.). Par ailleurs, ce groupe est d'une grande homogénéité botanique et offre un matériel végétal de récolte relativement aisée.

Ce travail comprend trois parties : dans la première sont rassemblées les connaissances botaniques et chimiques concernant les Génistées ; les deux dernières constituent ma contribution à leur étude : d'une part, techniques proposées et, d'autre part, résultats obtenus par l'application de ces méthodes.

Avant d'aborder l'exposé de ce travail, qu'il me soit permis d'adresser à mon Maître, Monsieur le Professeur R. PARIS, qui m'a accueilli au Laboratoire de Matière Médicale de la Faculté de Pharmacie de Paris, ma reconnaissance la plus vive. Sa grande expérience m'a constamment guidé et sa sollicitude s'est étendue bien au delà du cadre de cette thèse. Il m'a fourni un important matériel de référence dont une grande partie est le fruit de ses travaux personnels ; sans ces bases essentielles, mes recherches auraient été vaines.

Je suis heureux d'exprimer mes respectueux remerciements à Mademoiselle le Professeur S. LAMBIN qui, au cours de mes études, m'a toujours prodigué ses conseils avec la plus grande bienveillance et a ainsi permis la réalisation de mes aspirations les plus chères.

J'adresse également mes sincères remerciements à Monsieur le Professeur L. DOMANGE qui m'a fait l'honneur de s'intéresser à ce travail et a bien voulu faire partie de ce Jury.

Je ne saurais oublier Monsieur DOURIS, Pharmacien-Chef, et Monsieur BORY, Chef de Laboratoire à l'Hôpital Bichat où j'ai passé mes années d'internat. Ils m'ont accordé de nombreuses facilités pour la poursuite de cette Thèse et ont mis à ma disposition d'importants moyens de travail.

Je remercie aussi Madame MOYSE-MIGNON, Assistante de la Chaire de Matière Médicale, dont le dévouement et la gentillesse sont inépuisables ; son aide efficace m'a été des plus précieuses.

J'adresse mes affectueux remerciements à mon oncle et à ma tante, Monsieur et Madame VERGNE, qui m'ont fait parvenir de nombreux échantillons dans les meilleures conditions.

J'exprime aussi ma gratitude à mes camarades internes et à mes amis de l'Hôpital BICHAT dont les services et l'amitié m'ont toujours été d'un grand secours.

Au Laboratoire de Matière Médicale, j'ai rencontré l'aide la plus aimable auprès de mes camarades, en particulier de Monsieur PALMER, et, aussi, auprès de Madame GRENIER et de Monsieur DANGEARD. Je les assure de toute ma reconnaissance.

PREMIÈRE PARTIE

GÉNÉRALITÉS SUR LES GÉNISTÉES INDIGÈNES

CHAPITRE I

PLACE EN SYSTÉMATIQUE VÉGÉTALE ET CLASSIFICATION DE LA TRIBU

Place en systématique :

La plupart des Légumineuses renfermant des alcaloïdes appartiennent à trois tribus voisines dans la sous-famille des Papilionacées : Sophorées, Podalyriées et Génistées. Leurs caractères botaniques distinctifs ont été nettement exposés par BEILLE [3] :

A — Papilionacées à étamines libres ou à peine soudées à la base

a) Feuilles ordinairement composées pennées : **Sophorées**

b) Feuilles simples, composées palmées ou à trois folioles **Podalyriées**

B — Papilionacées à étamines soudées monadelphes ; à gousse membraneuse ou coriace déhiscente ou indéhiscente, jamais samaroïde ou drupacée **Génistées**

La première de ces tribus n'est pas représentée à l'état spontané en France et la deuxième ne comprend, dans notre flore, que l'unique espèce *Anagyris foetida* L. qui a donné son nom à l'un des principaux alcaloïdes du groupe : l'anagyrine.

Les autres Podalyriées sont surtout des plantes du Nouveau Monde, dont certaines renferment des alcaloïdes : anagyrine du *Thermopsis lanceolata* R. Br., cytisine du *Baptisia tinctoria* R. Br.

Les Sophorées sont originaires d'Extrême-Orient. La cytisine a été trouvée chez certains *Sophora* et des alcaloïdes voisins existent dans des plantes du même genre : matrine du *Sophora flavescens* Ait., pachycarpine ou d-spartéine du *Sophora pachycarpa* Schrenk.

Quant aux Génistées, elles apparaissent essentiellement comme des plantes de l'Europe atlantique ou de la région méditerranéenne, le nombre des espèces se raréfiant d'ouest en est, depuis la péninsule ibérique où il est particulièrement élevé, jusqu'au Caucase où l'on trouve encore *Genista tinctoria* L. On comprend donc que la France, ouverte comme l'Espagne sur l'Atlantique et la Méditerranée, soit riche en Génistées.

Il faut cependant remarquer que le genre *Adenocarpus* s'étend jusqu'à l'Afrique tropicale et que les lupins sont des plantes relativement cosmopolites puisqu'on les rencontre à la fois sur plusieurs continents. Mais nous verrons précisément que ces deux genres se distinguent par bien des caractères des autres plantes de la tribu.

On peut donner des Génistées la définition suivante : Papilionacées à étamines monadelphes, à feuilles entières simples ou composées à trois folioles, ou digitées, parfois nulles ; fleurs jaunes en général ; sous-arbrisseaux ou arbrisseaux, rarement herbes.

Classification de la tribu :

A cause de la grande homogénéité de la tribu, la classification en genres est souvent difficile et les synonymes abondent. D'après différents auteurs, les genres *Cytisus*, *Genista*, *Spartium*, *Sarothamnus*, etc. groupent des espèces plus ou moins nombreuses suivant l'importance attribuée à tel ou tel caractère (port, caractères foliaires et floraux).

Le cas du genêt purgatif, tel que le relate JOLIVET [50] est le meilleur exemple de ces hésitations. LINNÉ en fit d'abord un *Spartium* à feuilles simples, puis un *Genista* ; mais SPACH et BENTHAM le rangent dans le genre *Cytisus* confondu avec *Genista* à cause du style arqué et de la gousse non glanduleuse. WEBB crée pour lui seul le genre *Spartocytisus*. GRENIER et GODRON puis BONNIER [8] l'appellent *Sarothamnus*, mais COSTE [24] le désigne comme *Genista* et cette dernière dénomination s'est imposée car le style arqué non enroulé, les feuilles simples, l'éloignent des *Sarothamnus* et l'étendard droit, non redressé, ainsi que la carène droite l'excluent des *Cytisus*. Bien que sa composition chimique le rapproche beaucoup du genêt à balai, l'examen des caractères botaniques nous dicte de l'appeler : *Genista purgans* L.

BEILLE [3] distingue deux sous-tribus selon la forme du tube staminal : Crotalarinées et Génistinées.

Toutes les plantes indigènes appartiennent aux Génistinées. Pour la distinction de ces diverses espèces de France, nous adopterons le schéma proposé par COSTE [24], qui nous paraît le plus rationnel.

- Calice à 5 dents égales ou presque égales, non disposées en lèvres :
 - + Arbrisseau très épineux atteignant un mètre ; feuilles toutes trifoliolées ; fleurs jaunes ; calice se rompant circulairement à la floraison ; gousse saillante à 3-10 graines *CALYCOTOME*
- Calice à dents inégales disposées en 1-2 lèvres ; fleurs jaunes.
 - + Calice à 1-2 lèvres fendues jusqu'à la base ; feuilles simples :
 - = Calice à deux lèvres distinctes jusqu'à la base, velues ou pubescentes ; corolle dépassant peu le calice ; gousse courte presque incluse ; feuilles et rameaux épineux *ULEX*
 - = Calice à une lèvre coupée obliquement, glabre ; corolle très longuement saillante ; gousse linéaire longue de 6-8 cm *SPARTIUM*
 - + Calice à deux lèvres non fendues jusqu'à la base ; feuilles simples ou trifoliolées :
 - = Gousse couverte sur toute sa surface de tubercules glanduleux ; arbrisseaux à rameaux blanchâtres, très divariqués *ADENOCARPUS*
 - Gousse glabre ou velue, non tuberculeuse glanduleuse :
 - Style enroulé ou fortement courbé en cercle ; calice scarieux très court, à deux lèvres divariquées ; jeunes rameaux très allongés, verts, noircissant par la dessiccation *SAROTHAMNUS*
 - Style ascendant, simplement arqué, jamais contourné en cercle ; calice ordinairement non scarieux
 - Calice à lèvres dressées, rarement divariquées ; étendard étroit, non redressé ; carène courbée ; feuilles simples ou trifoliolées *GENISTA*
 - Calice à lèvres presque toujours divariquées ; étendard large, redressé ; carène courbée ; feuilles trifoliolées. *CYTISUS*
 - + Calice à deux lèvres profondes, divariquées, entières ou bi-tridentées ; étendard grand, caréné sur le dos, à côtés réfléchis ; ailes connées au sommet :
 - Feuilles digitées à stipules soudés au pétiole ; fleurs en grappes terminales, jaunes, blanchâtres ou bleues ; gousse grande, très saillante *LUPINUS*

Nous remarquerons que l'auteur sépare nettement ce dernier genre des précédents. En effet, le port des lupins (herbes à feuilles digitées et à fleurs de couleurs variées) les distingue des autres Génistées, mais la monoadelphie des étamines est en faveur de leur appartenance à cette tribu.

Nous avons exclu de notre étude personnelle le genre *Adenocarpus*, d'ailleurs pauvrement représenté en France par les espèces : *Adenocarpus telonensis* DC., *Adenocarpus complicatus* Gay et *Adenocarpus commutatus* Guss. Les deux dernières renferment des alcaloïdes particuliers (orensine, adénocarpine) à noyau dipipéridique, comme nous le verrons plus loin (cf. page 25).

Sur le genre *Lupinus*, très distinct des autres Génistées, nous n'avons fait que quelques expériences destinées à préciser quelques points de l'étude des autres espèces. La composition chimique de ce genre a d'ailleurs suscité de très nombreux travaux.

L'ensemble de nos recherches portera donc sur un groupe très homogène de Génistées pouvant se définir de la façon suivante : Génistées indigènes, ligneuses, à feuilles simples ou trifoliolées, ou nulles ; à fleurs jaunes ; calice à dents inégales ; gousse non glanduleuse ; port de sous-arbrisseau ou arbrisseau. Ce groupe comprend les genres suivants : *Ulex*, *Spartium*, *Genista*, *Sarothamnus* et *Cytisus*.

L'ordre que nous adopterons n'est pas rigoureusement conforme à celui de COSTE [24], mais, en le choisissant, nous avons pensé que l'exposé des résultats y gagnerait en clarté car nous avons tenu compte des affinités chimiques, principalement en ce qui concerne les alcaloïdes.

Voici la liste des espèces étudiées dans la troisième partie de ce travail :

Genre *Sarothamnus* : *Sarothamnus scoparius* K.

Genre *Genista* : *Genista purgans* L.

Genista tinctoria L.

Genre *Spartium* : *Spartium junceum* L.

Genre *Cytisus* : *Cytisus Laburnum* L.

Genre *Ulex* : *Ulex europaeus* L.

Ulex nanus Forst.

Afin de préciser quelques relations, nous avons été amené à faire également des essais sur des extraits de *Genista sagittalis* L., *Genista hispanica* L., *Genista pilosa* L., *Calycotome spinosa* L. et *Lupinus albus* L.

CHAPITRE II

COMPOSITION CHIMIQUE

Les Génistées ont été utilisées de tous temps, soit comme aliments (certains lupins), soit en teinture (genêt des teinturiers), soit en médecine populaire (genêt purgatif, genêt à balai). L'étude de ces plantes a montré que leurs propriétés pharmacodynamiques étaient surtout dues à des substances azotées : alcaloïdes en premier lieu, mais aussi composés aminés plus simples comme tyramine, oxytyramine [49], choline etc... Un autre groupe de substances intervient également : ce sont les dérivés flavoniques, responsables par ailleurs des propriétés tinctoriales.

Aussi nous a-t-il paru intéressant de consacrer ce travail aux deux principaux groupes de principes actifs : alcaloïdes et flavonoïdes. Nous avons donc exclu de cette étude les dérivés aminés non alcaloïdiques qui auraient exigé une mise au point spéciale des conditions d'expérience et auraient beaucoup trop élargi notre sujet. Cependant, nous avons été amené, à propos de l'*Ulex europaeus* L., à porter notre attention sur la choline car l'étude de ce corps nous a semblé, dans ce cas, devoir éclairer celle des alcaloïdes. Nous devons d'ailleurs remarquer que la choline peut être, à bien des égards, considérée comme un véritable alcaloïde, en particulier par son comportement lors de l'électrophorèse et aussi par la possibilité d'être révélée par le réactif de DRAGENDORFF.

A. ALCALOÏDES

Historique :

On doit à CASSOLA [11], en 1835, le premier isolement d'un alcaloïde des Génistées : la lupinine. A partir du genêt à balai (*Sarothamnus scoparius* K.) STENHOUSE, en 1851 [92], isole la spartéine à l'état de pureté, VALEUR découvrit plus tard, dans les résidus de sa fabrication, deux autres alcaloïdes voisins : la sarothamnine [96] et la génistéine [97]. D'autre part, HUSEMANN et MARMÉ [45] isolèrent la cytisine du cytise aubour en 1865. GALLOIS et HARDY [32] signalèrent en 1885 dans les semences de l'*Anagyris foetida* L., plante d'une tribu voisine de celle des

Génistées, la présence d'un nouvel alcaloïde : l'anagryrine, qui devait être caractérisée plus tard dans plusieurs espèces de Génistées. La même année, HAGEN [38] trouva pour la première fois la lupanine, chez le lupin bleu et BERGH [5] en 1904 caractérisa l'hydroxylupanine.

A partir de 1925 l'étude systématique du genre *Lupinus* par COUCH [22] conduisit à la découverte de nombreux alcaloïdes de composition voisine de celle de la spartéine. Dans les années qui suivirent, on retrouva chez d'autres espèces beaucoup de corps déjà isolés, mais ce n'est que tout récemment qu'on put démontrer l'existence, chez les Génistées, d'alcaloïdes de structure nettement différente de celle de la spartéine. Les travaux de GALINOVSKY, GOLDBERGER et POEHM [31] mirent en évidence un alcaloïde voisin de ceux des sénéçons chez le *Cytisus Laburnum* L. : la laburnine. L'étude du genre *Adenocarpus* par RIBAS [81] [84] [85] aboutit à la découverte d'un nouveau groupe chimique d'alcaloïdes comprenant, en particulier, adénocarpine, oremsine et iso-oremsine.

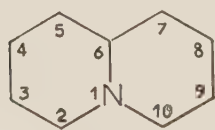
Classification :

Actuellement, d'après les ouvrages généraux de HENRY [42] et MANSKE [61], les alcaloïdes des Génistées peuvent être classés, d'après leur structure chimique, en trois groupes distincts :

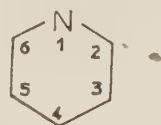
I) Alcaloïdes dérivant de l'octohydropyridocoline (nor-lupinane).

II) Alcaloïdes à noyau dipipéridique.

III) Alcaloïdes de structures diverses ou non encore établies.



nor-lupinane



pipéridine

Il est remarquable de constater que presque tous les alcaloïdes des Légumineuses appartiennent au premier groupe, et que, de plus, il est tout à fait exceptionnel de les rencontrer en dehors de cette famille. On connaît cependant la spartéine dans le latex du *Chelidonium majus* L. (Papavéracées), la N-méthyl-cytisine chez le *Caulophyllum thalictroides* Regel (Berbéridacées), et la lupinine dans l'*Anabasis aphylla* L. (Chénopodiacees).

A l'intérieur même de la famille des Légumineuses, ces alca-

loïdes sont pratiquement localisés dans les trois tribus voisines dont nous avons parlé plus haut : Sophorées, Podalyriées et Génistées.

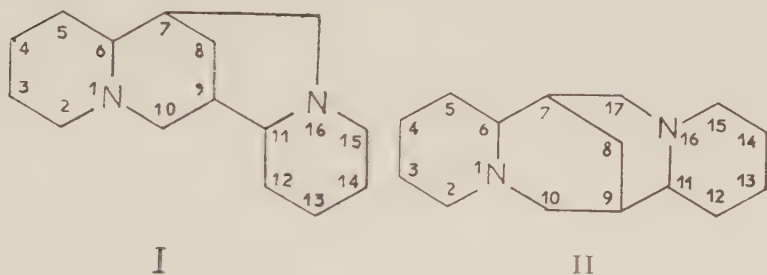
Les alcaloïdes du deuxième groupe — dipipéridique — ne se rencontrent pas, chez les Génistées, en dehors du genre *Adenocarpus*.

Enfin, nous avons rangé dans le troisième groupe les alcaloïdes dont la structure est l'exception chez les Légumineuses : par exemple la laburnine du cytise aubour qui se rattache à la pyrrolizidine. Nous avons également classé dans ce groupe les substances insuffisamment connues à l'heure actuelle.

I) ALCALOÏDES DÉRIVANT DU NOR-LUPINANE :

Comme nous l'avons vu, ce groupe est, de beaucoup, le plus important ; il renferme des alcaloïdes simples, comme la lupinine qui dérive du seul noyau nor-lupinane, ou bien des corps plus complexes dont la grande majorité possède une structure combinant un noyau pyridocolique et un noyau pipéridique (I) [19]. On comprend ainsi facilement leurs rapports avec les alcaloïdes du deuxième groupe : dipipéridiques.

La représentation la plus récente de leur formule développée (II) [63] fait apparaître un noyau octogonal avec un pont méthylénique entre les carbones 7 et 9 :



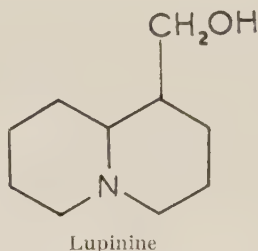
Nous avons subdivisé le groupe en alcaloïdes saturés et insaturés : ce qui correspond, d'une façon à peu près constante à leur répartition botanique, à tel point qu'il est possible de parler de Génistées à alcaloïdes saturés et de Génistées à alcaloïdes insaturés.

a — Alcaloïdes saturés :

1 — Alcaloïde en C_{10} : **lupinine** :

La lupinine est le plus simple de tous les alcaloïdes des Génistées. Sa formule, confirmée par synthèse, fait apparaître un

noyau nor-lupinane avec un chaînon alcool primaire, comme le prouve la possibilité de formation d'un dérivé benzoylé. La lupinine a été isolée pour la première fois par CASSOLA [11] des graines du lupin jaune ; sa constitution a ensuite fait l'objet de nombreux travaux, comme l'indiquent LEBEAU et ses collaborateurs [56].



WILLSTAETTER et FOURNEAU [103] ont établi sa formule exacte ; $C_{10}H_{19}NO$, puis KARRER [54] et CLEMO [17] ont démontré l'existence du noyau pyridocolique dans sa molécule.

La synthèse de la dl-lupinine a été réalisée par CLEMO [16] et par WINTERFELD et VON COSEL [104].

Propriétés :

C'est un produit solide, cristallisé, incolore ($F = 68^\circ$), soluble dans l'eau, l'alcool et l'éther.

Lévogyre : $[\alpha]_D = -25,9^\circ$ (eau)

Comme la spartéine, la lupinine en solution étherée renfermant une suspension de soufre donne un précipité orangé par action de l'hydrogène sulfuré.

Répartition :

Elle est abondante dans les graines du *Lupinus luteus* L., COUCH [22] a pu en extraire 2 à 3 %.

En dehors des Légumineuses, on a également isolé la lupinine de l'*Anabasis aphylla* L. (Chénopodiacees).

Isomères :

On connaît deux isomères de la lupinine : la **tétralupine** du *Lupinus palmeri* Wats. et la **virgildine** des *Virgilia* (Légumineuses).

2 — Alcaloïdes en C_{15} (voir figure 1).

— Non oxygénés : **spartéine** :

C'est le principal alcaloïde des Légumineuses et le seul dont l'usage en médecine soit courant, sous forme de sulfate neutre.

Depuis sa découverte par STENHOUSE [92] qui a d'ailleurs

établi sa formule exacte dès 1851 : $C_{15}H_{26}N_2$, elle a été très étudiée et l'établissement de sa formule développée a donné lieu à certaines controverses : MOUREU et VALEUR [67] lui ont tout d'abord attribué une structure symétrique : diquinuclidine-méthane, mais cette structure a été bientôt reconnue inexacte.

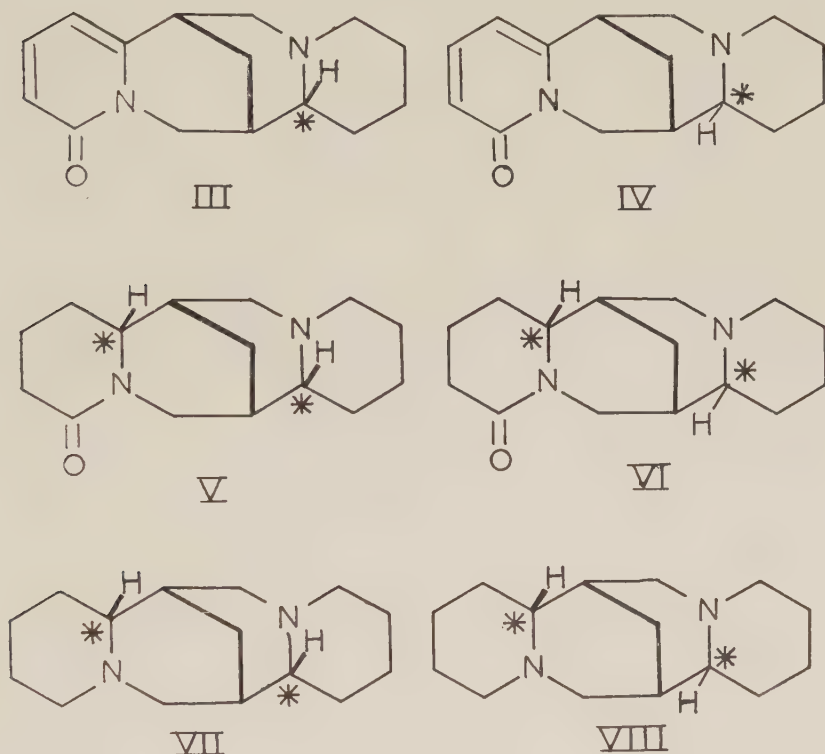


Fig. 1. — Alcaloïdes en C_{15} du groupe du lupanine (en trait gras, les parties s'avancant au-dessus du plan de la figure).

III - thermopsine ; IV - anagyrine ; V - α -isolupanine ; VI - lupanine ; VII - α -isospartéine ; VIII - spartéine.

ING [46] puis CLEMO et RAPER [19] ont donné une formule développée tenant compte des résultats de la dégradation chimique. Les derniers auteurs, en particulier, mettent bien en évidence les noyaux pyridocolique et pipéridique (formule I p. 17). Plus récemment MARION [63] a publié une représentation plus condensée avec cycle octaédrique et pont méthylénique (formule II) ; le développement dans l'espace de cette formule explique certaines isoméries (voir figure 1, formule VIII). L'ensemble des noyaux

étant dans le plan de la feuille de papier et le pont méthylénique s'élevant au-dessus, les hydrogènes des carbones asymétriques en 6 et 11 peuvent être, soit du même côté que le pont méthylénique (position *cis*), soit, au contraire, au-dessous du plan des noyaux (position *trans*). La spartéine du genêt à balai est la forme lévogyre de l'isomère *cis-trans* (formule VIII).

Propriétés :

On rencontre la spartéine dans la nature sous trois formes : lévogyre (spartéine du genêt à balai) : $[\alpha]_D = -16,4^\circ$ (éthanol), dextrogyre (ou pachycarpine $[\alpha]_D = +17,1^\circ$ (éthanol) et racémique, accompagnée, en général, d'un excès de forme lévogyre.

La l-spartéine est une huile incolore, volatile (PE = 325° ou 188° sous 18 mm.). Elle est peu soluble dans l'eau, mais soluble dans l'alcool ou l'éther.

C'est une base diacide (diamine bitertiaire) qui donne deux sortes de sels : acides et neutres. Elle se comporte comme bivalente en présence d'hélianthine comme indicateur, et monovalente en présence de phtaléine ou de tournesol.

Elle donne une réaction caractéristique, mais non spécifique : en solution étherée et en présence de soufre, il se produit, sous l'action de l'hydrogène sulfuré, un abondant précipité (réaction de JORISSEN [51]). Cette réaction s'applique à ses sels cristallisés sur lesquels on peut faire agir directement une solution de sulfure d'ammonium polysulfuré.

Répartition :

— La **l-spartéine** est abondante chez le genêt à balai dont on l'extrait industriellement. On la trouve également chez d'autres Génistées : *Genista purgans* L., certaines espèces des genres *Cytisus* et *Lupinus* (la lupinidine du *Lupinus niger* Pharm. a d'ailleurs été reconnue identique à la l-spartéine). Dans les graines du *Lupinus luteus* L. elle accompagne la lupinine, et, chez *Genista aethnensis* D. C. et *Retama sphaerocarpa* Boiss., la rétamine. Certains auteurs l'ont signalée dans le *Spartium junceum* L. Enfin, en dehors des Légumineuses, sa présence a été démontrée dans les résidus de fabrication de la chélidonine du *Chelidonium majus* L. (Papavéracées).

— La **d-spartéine** ou **pachycarpine** a été retrouvée dans plusieurs Génistées des genres *Cytisus*, *Lupinus*, *Sarothamnus*, *Retama* et, en dehors de la tribu, chez d'autres Légumineuses (*Anagyris*, *Ammodendron*, *Ammothamnus*, *Thermopsis* et *Sophora*).

— La **dl-spartéine** existe en abondance dans l'*Adenocarpus hispanicus* D. C. étudié par RIBAS [81], où elle est accompagnée d'une quantité presque égale de l-spartéine. On la rencontre aussi dans le *Cytisus proliferus* L.

Isomères : α -iso-spartéine = génistéine :

L'examen de la formule dans l'espace (VIII) laisse prévoir l'existence d'un isomère *cis-cis* et d'un isomère *trans-trans*. Le premier ou α -iso-spartéine est identique, dans sa forme lévogyre, à la génistéine de VALEUR [97]. Les travaux de MARION et LÉONARD [62] ont en effet démontré l'inexactitude de la formule brute proposée par VALEUR : $C_{16}H_2N_2$. Par l'étude du spectre d'absorption infra-rouge et des points de fusion de plusieurs dérivés, ils ont pu identifier la génistéine à la 1- α -ispartéine (formule VII).

La génistéine est une base volatile ($F = 60,5^\circ$) ($PE = 177-178^\circ$ sous 22 mm). Elle a été retrouvée chez le *Lupinus caudatus* Kellogg. (= *L. laxiflorus* Dougl.)

β -iso-spartéine :

C'est l'isomère *trans-trans* de la spartéine; il est encore inconnu à l'état naturel.

Alcaloïdes voisins :

La **pusilline** de certains lupins, renferme deux atomes d'hydrogène de plus que la spartéine : $C_{15}H_{25}N_2$, entraînant probablement l'ouverture du cycle octaédrique au niveau des carbones 6 et 17.

La constitution de la **sarothamnine**, isolée pour la première fois par VALEUR [96], n'est pas encore tout à fait établie, mais il s'agit certainement d'un corps voisin de la spartéine. Les travaux assez récents de DELABY, BARONNET et GUY [27] ont montré que la formule brute établie par VALEUR : $C_{15}H_{24}N_2$, est inexacte. Ces auteurs considèrent la sarothamnine comme une bi-spartéine : $C_{30}H_{50}N_4$.

La sarothamnine base est un corps solide ($F = 173-174^\circ$ au bloc Maquenne) qui cristallise en se combinant à certains solvants.

— Oxygénés : **lupanine** :

La lupanine a été isolée pour la première fois du lupin bleu par HAGEN [38]. Sa formule brute établie par SIEBERT [90], fait apparaître un atome d'oxygène en plus et deux atomes d'hydrogène en moins, par rapport à la spartéine : $C_{15}H_{24}N_2O$. Les travaux de CLEMO et RAPER [19] ainsi que ceux de ING ont permis de lui attribuer indiscutablement une formule analogue à celle de la spartéine : le groupe $C=H_2$ en 2 étant remplacé par $C=O$. La réduction de la dl-lupanine par le phosphore et l'acide iodhydrique conduit à la dl-spartéine.

La formule développée dans l'espace précise encore cette analogie, : la lupanine naturelle étant l'isomère *cis-trans* (*cis* en 6 et *trans* en 11). (Fig. 1, VI).

Propriétés :

Comme la spartéine, elle peut exister sous trois formes : lévo-gyre, dextrogyre ($F = 44^{\circ}$; $[\alpha]_D = + 61,4^{\circ}$ (acétone)) et racémique ($F = 99^{\circ}$).

La dl-lupanine est un solide, cristallisé, incolore, soluble dans l'eau et les solvants organiques.

Répartition :

La d-lupanine est abondante dans les graines du *Lupinus albus* L., on la rencontre aussi chez d'autres espèces du genre *Lupinus* et chez certains *Cytisus*. En dehors des Genistées, elle existe dans le *Podalyria sericea* R. Br. et le *Virgilia capensis* Lam. (Légumineuses).

La l-lupanine se rencontre dans le *Lupinus Macounii* Rydb. et certains *Podalyria*, et la dl-lupanine dans les genres *Lupinus*, *Podalyria* et *Virgilia*.

Récemment, la lupanine a été trouvée dans les graines de genêt à balai par JAMINET [48].

Isomères : α -iso-lupanine, matrine, sophocarpine :

Comme pour la spartéine, la formule développée dans l'espace laisse prévoir l'existence d'isomères *cis-cis* et *trans-trans*, mais l'oxygène sur le carbone 2 ajoutant un élément de dissymétrie, il peut exister également un isomère *cis* en 11 et *trans* en 6 (voir figure 1, formule VI).

L'isomère *cis-cis* ou α -iso-lupanine a été trouvé à l'état naturel : c'est la d- α -lupanine des lupins : *Lupinus caudatus* Kellog et *Lupinus sericeus* R. Br. (formule V).

La **matrine** et la **sophocarpine** se rencontrent chez les *Sophora*.

Alcaloïdes voisins :

La **rétamine** de formule brute $C_{15}H_{23}N_2O$ existe, à côté de la spartéine, chez le *Genista aethnensis* D. C. et le retem, *Retama sphaerocarpa* Boiss.

SANCHEZ et RIBAS pensent que sa formule développée serait semblable à celle de la spartéine, avec un groupe hydroxyle sur le carbone 6. Sa parenté avec la spartéine est d'ailleurs bien établie par le fait que l'hydrogénation conduit à la d-spartéine.

Des alcaloïdes plus oxygénés que la lupanine se rencontrent à l'état naturel :

1) à un atome d'oxygène en plus : $C_{15}H_{24}N_2O_2$: **oxymatrine**, **lupanoline** et **hydroxylupanine** :

Le dernier de ces alcaloïdes est assez fréquent chez les Génistées. Il a d'abord été isolé par BERGH [5] puis par BECKEL [2] qui lui attribua le premier sa formule brute exacte.

Sa réduction par le phosphore et l'acide iodhydrique conduit à la lupanine et UENO [95] a montré la présence d'un groupe hydroxyle dans sa molécule. La formule développée admise aujourd'hui est analogue à celle de la lupanine avec un groupe $-OH$ en 13 (formule VI).

Propriétés :

C'est un corps solide ($F = 173-174^{\circ}$).

Répartition :

En dehors du genre *Lupinus*, on connaît maintenant l'hydroxy-lupanine dans les graines du genêt à balai, où elle se forme par oxydation de la spartéine, à côté de la lupanine [48].

2) à deux atomes d'oxygène en plus : l'**ammothamnine**, et la **trilupine** sont des isomères, de formule : $C_{15}H_{24}N_2O_3$. Aucun n'a été trouvé chez les Génistées indigènes.

b — Alcaloïdes insaturés :

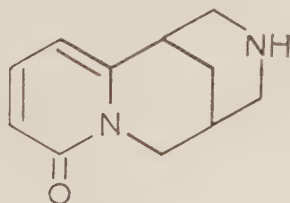
1 — Alcaloïde en C_{11} : **cytisine** :

La cytisine est l'alcaloïde insaturé le plus simple, c'est aussi le plus commun chez les Légumineuses.

Elle a été isolée pour la première fois par HUSEMANN et MARMÉ [45]. PARTHEIL [75] en a donné la première formule exacte : $C_{11}H_{14}N_2O$. Les travaux de LECOQ [57] ont démontré l'existence d'un noyau pyridocolique dans sa molécule et de nombreux auteurs ont également abordé le problème de sa constitution, en particulier ING [47] et SPAETH [91].

L'existence d'une fonction amine secondaire est établie par la possibilité de formation d'un dérivé N-méthylé : par action de l'iodure de méthyle on obtient la méthyl-cytisine, alcaloïde rencontré par ailleurs à l'état naturel.

La formule développée admise aujourd'hui est la suivante :



Elle comprend un noyau pyridocolique avec deux doubles liaisons et un groupe $C=O$ dont l'atome d'oxygène est « non réactif » [61].

Propriétés :

La cytisine est un corps solide incolore ($F = 153^\circ$), lévogyre $[\alpha]_D^{70} = -119,6^\circ$ (eau), soluble dans l'eau, l'alcool, et le chloroforme, insoluble dans l'éther et le benzène.

Au point de vue chimique, elle se comporte comme une base divalente.

Elle donne avec le chlorure ferrique une coloration rouge qui vire au bleu par addition d'eau oxygénée.

Par son action nicotinique sur les ganglions sympathiques qu'elle excite puis paralyse, la cytisine est un poison violent, responsable de la plupart des accidents survenus avec les Génistées.

Répartition :

On rencontre la cytisine dans de nombreuses Génistées, plusieurs *Cytisus*, *Genista tinctoria* L. et *Genista linifolia* L., *Spartium junceum* L., *Ulex europaeus* L., etc...; en dehors de la tribu, dans les genres *Anagyris*; *Sophora*; *Baptisia*; *Thermopsis* (Légumineuses).

Alcaloïdes voisins :

La **méthyl-cytisine** (N-méthyl-cytisine) d'abord isolée par POWER et SALWAY [80] du *Caulophyllum thalictroides* Regel (Berbéridacées) et appelée caulophylline, a été ensuite retrouvée dans de nombreuses Légumineuses dont certaines Génistées comme *Genista tinctoria* L. et plusieurs *Cytisus*.

2 — Alcaloïdes en C_{15} : **anagyrine** :

Découverte par GALLOIS et HARDY [32] dans les graines de l'*Anagyris foetida* L., elle a été étudiée par SCHMIDT [86] qui montra l'analogie de sa constitution avec celle de la cytisine, et par E.-P. WHITE [101] qui la rapprocha de la lupanine dont elle ne diffère que par quatre atomes d'hydrogène en moins rendant le noyau insaturé : $C_{15}H_{20}N_2O$.

Sa formule développée est donc semblable à celle de la lupanine (formule IV).

Elle a été reconnue identique à la monolupine de COUCH et à la rhombinine.

Propriétés :

L'anagyrine se présente en masse vitreuse, jaune, fonçant à la lumière ($PE = 210-215^\circ$ sous 4 mm.), lévogyre ($[\alpha]_D = -165,3^\circ$).

Elle est soluble dans l'eau et dans de nombreux solvants sauf l'éther de pétrole.

C'est une base divalente, bitertiaire.

Elle exerce sur le cœur une action semblable à celle de la spartéine, mais sa toxicité est élevée.

Répartition :

L'anagyrine est largement répandue chez les Génistées où elle accompagne très souvent la cytisine. On l'a caractérisée dans plusieurs *Lupinus* et *Cytisus*, *Genista tinctoria* L. et *Genista liniifolia* L., *Ulex europaeus* L. et, en dehors des Génistées, dans les Légumineuses des genres *Baptisia*, *Sophora*, *Thermopsis*, *Anagyris*.

Isomères :

Pour l'anagyrine, la présence d'une double liaison en 5-6, supprime le carbone asymétrique en 6 et réduit à deux les possibilités de stéréoisomères : H *trans* sur le carbone 11 : anagyrine et H *cis* : thermopsine (Formule III).

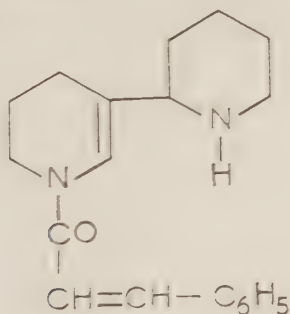
La **d-thermopsine** est l'hexalupine des lupins exotiques et la **l-thermopsine** existe chez les *Thermopsis*, mais aucun de ces alcaloïdes ne se rencontre dans des Génistées indigènes.

Alcaloïdes voisins :

Intermédiaires entre anagyrine et lupanine sont les isomères de formule $C_{15}H_{22}N_2O$: **aphyllidine** et **monspessulanine**, dont la structure, non encore tout à fait établie, comporte une double liaison. La monspessulanine se trouve dans *Genista candicans* L. (= *Cytisus monspessulanus* L.), Génistée indigène de notre midi.

II) ALCALOÏDES A NOYAU DIPIPÉRIDIQUE : **adénocarpine**, **orensine**, **iso-orensine**.

La structure de l'adénocarpine de formule brute : $C_{19}H_{24}N_2O$ a fait l'objet des travaux de RIBAS [85] qui a démontré sa nature dipipéridique et lui a attribué la formule développée suivante : N-cinnamyl-2-3'-dipipéridyle :



L'orensine, son isomère, a été découverte par I. RIBAS et L. COSTA [84] dans les feuilles de l'*Adenocarpus commutatus*

Guss. Ces auteurs ont ensuite démontré qu'il s'agissait du racémique de la d-adénocarpine.

Enfin, chez *Adenocarpus complicatus* Gay., RIBAS et RIVERA ont trouvé un autre alcaloïde de même formule brute et optiquement inactif qu'ils considèrent comme un isomère structural : l'iso-orensine.

En dehors des Génistées, on connaît chez l'*Ammodendron* (Légumineuses) un autre alcaloïde dipipéridique : l'ammodendrine.

III) ALCALOÏDES DIVERS :

Il existe, chez les Génistées indigènes, des alcaloïdes dont la structure n'est pas encore bien connue : c'est le cas par exemple, de la calycotomine et de la calycotamine du *Calycotome spinosa* L.

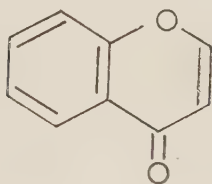
On connaît aussi un alcaloïde dont la nature est tout à fait différente des précédents : la laburnine du *Cytisus Laburnum* L. isolée par GALINOVSKY, GOLDBERGER et POEHM [31].

Dérivé de la pyrrolizidine, il se rapproche des alcaloïdes des *Crotalaria* (Légumineuses) et des sénéçons (Composées.)

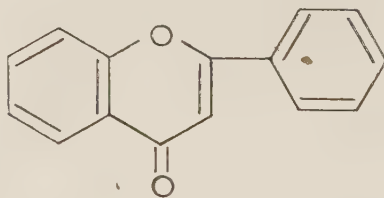
B. FLAVONOÏDES

GÉNÉRALITÉS SUR LES FLAVONOÏDES :

Contrairement aux alcaloïdes que nous venons d'étudier, les flavonoïdes des Légumineuses n'ont pas fait l'objet de recherches systématiques suivies, aussi leur connaissance est-elle encore fragmentaire. Nous ne pourrions que passer en revue les dérivés déjà étudiés en indiquant leur place chimique dans le groupe des flavonoïdes.



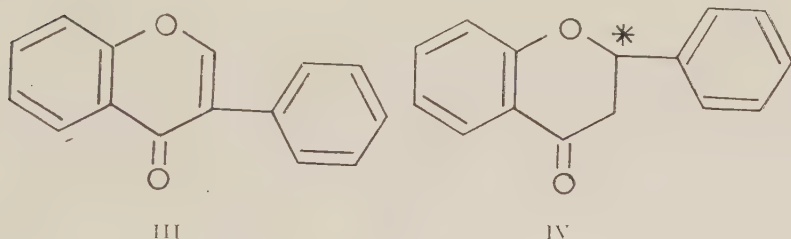
I



II

On sait que les pigments flavoniques sont des dérivés de la chromone ou γ -benzopyrone (I) substance incolore apparentée à la coumarine ou α -benzopyrone. Leurs propriétés ont été rappelées dans une revue d'ensemble de PARIS et BEAUQUESNE [72] et de R. PARIS [71].

Si un cycle benzénique est fixé en 2 on obtient la flavone (II), s'il est fixé en 3 l'isoflavone (III). La réduction du cycle pyronique conduit à la flavanone (IV), s'isomérisant facilement en chalcone avec ouverture du noyau pyronique en 1-2. Lorsque des — OH phénoliques viennent se fixer sur le noyau benzénique, on obtient alors les hydroxy-flavones ou hydroxy-isoflavones. Si l'hydroxyle est fixé en 3 on appelle le dérivé : flavonol. Le nombre et l'emplacement des hydroxyles influe sur le spectre d'absorption en lumière ultra-violette et aussi sur le déplacement électrophorétique de ces substances [40].



Dans la cellule végétale vivante on trouve les flavonoïdes dans la plupart des cas sous forme d'hétérosides, la molécule flavonique qui constitue le génine étant liée à des sucres divers (glucose, rhamnose, galactose).

Propriétés des dérivés flavoniques :

Ils se présentent, en général, sous forme de cristaux jaunes plus ou moins foncés, les isoflavones étant cependant incolores.

En lumière ultra-violette, ils sont fluorescents avec des colorations assez variables, les osides ayant généralement une couleur plus sombre que les génines.

En milieu alcalin leur coloration propre est fortement renforcée.

Tous donnent avec le chlorure ferrique des colorations variées suivant leur nature chimique (gris, vert, brun-rougeâtre).

Sous l'influence de l'hydrogène naissant, ils se réduisent en donnant des pigments anthocyaniques de couleur orangée à rouge-violacée (réaction de SHIBATA, dite de la cyanidine). Les isoflavones ne donnent pas cette réaction.

Le réactif citro-borique de WILSON permet de distinguer flavanones et flavones, ces dernières donnant seules une coloration jaune ; les flavonols présentent une fluorescence verte intense.

Une autre réaction très sensible est la coloration en présence d'hydrure de lithium et d'aluminium à 5 % dans l'éther, utilisée

par HASHIMOTO [40] pour révéler les spots de flavonoïdes après électrophorèse sur papier.

FLAVONOÏDES DES GÉNISTÉES :

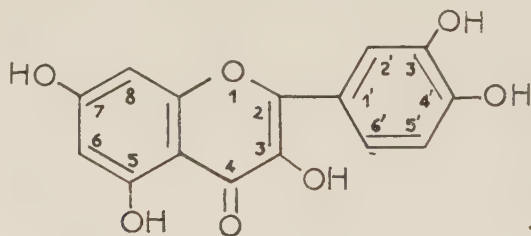
Comme nous l'avons remarqué plus haut, l'état actuel des connaissances sur ces substances ne permet pas de les étudier dans leur ensemble comme nous l'avons fait pour les alcaloïdes. Nous nous contenterons donc d'énumérer les divers corps connus à l'heure actuelle, isolés des plantes que nous étudions, en les classant d'après leur origine botanique.

I — Flavonoïde du *Sarothamnus scoparius* K. : **scoparoside** :

Ce dérivé est connu depuis les recherches de STENHOUSE [92] sous le nom de « scoparine », mais sa véritable nature chimique n'a été établie qu'après les travaux de MASCRÉ et PARIS [64]. Ces auteurs ont démontré qu'il s'agissait d'un *rhamnoside* du *scoparol* : l'action de la rhamnodiastase pendant un mois à 37° permet en effet le dédoublement suivant, :



Le scoparol est vraisemblablement un *éther méthylique du quercétol* ou 5-7-3'-4' tétraoxyflavonol :



Propriétés :

Le scoparoside est un corps solide jaune d'or qui cristallise avec deux molécules d'eau ($F = 228-230^\circ$). Il est peu soluble dans l'eau et les alcools méthylique et éthylique à froid, mais assez soluble à chaud. Il se dissout facilement dans les alcalis en donnant une coloration jaune foncé. Avec le chlorure ferrique, il se colore en vert-noirâtre.

Il a des propriétés réductrices nettes (réduit la liqueur de Fehling). Il donne une coloration vert-jaune fluorescente avec le réactif citro-borique de WILSON.

Répartition :

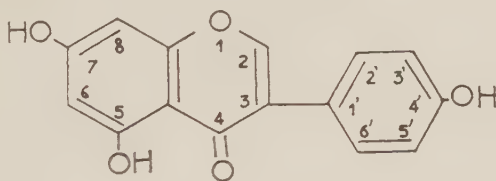
Plusieurs auteurs [23] [50] ont signalé la présence de « scoparine » chez d'autres plantes que le genêt à balai, mais nous verrons plus loin que ces travaux anciens ne permettent pas d'affirmer qu'il s'agit bien du scoparoside.

2 Flavonoïdes du *Genista tinctoria* L. : **génistéine** (1), **lutéine**, **génistoside** :

En 1899 PERKIN et NEWBURY [77] ont décrit deux substances flavoniques colorantes isolées du genêt des teinturiers : la lutéine et la génistéine (1).

En 1941, CHARAUX et RABATÉ [12] ont isolé des fleurs de cette même espèce le génistoside dont ils ont démontré l'identité avec la « génistine » retirée du soja par WALZ [99] qui la considère comme identique à la « génistéine » de PERKIN ; le génistoside ne serait donc que l'ancienne « génistéine ».

Le génistoside est le glucoside du *génistéol* ou 5-7-4' trihydroxy-isoflavone :



Propriétés :

Le génistoside est une poudre blanche, insoluble dans l'eau, même à chaud, peu soluble dans l'alcool fort, même à chaud, soluble dans l'alcool à 50°, très soluble dans la pyridine. C'est un corps hydraté (10 OH₂), F = 274-276°.

Il est actif sur la lumière polarisée ($[\alpha]_D = -40^\circ$, dans la pyridine légèrement hydratée).

Il se colore en violet-brun par le chlorure ferrique.

Son aglycone, le génistéol fond à 306°.

Répartition :

On retrouve le génistoside dans le soja, comme nous l'avons vu. Le sophoricoside, flavonoïde retiré également par CHARAUX et RABATÉ [14] du *Sophora* a une formule brute semblable à celle du génistoside, mais ses propriétés physiques sont différentes.

(1) Cette dénomination prête à confusion avec la génistéine, alcaloïde du *Sarothamnus scoparius* K.

3 — Flavonoïdes de l'*Ulex europaeus* L. : **ulexoside**, **ulexflavone**.

L'existence de dérivés flavoniques chez l'ajonc est connue depuis les travaux de BRIDEL et BÉGUIN [10] qui isolèrent l'ulexoside des fleurs de cette plante. Plus récemment, R. PARIS [70] a découvert, dans les fleurs également, un nouveau flavonoïde l'ulexflavone.

Ulexoside :

La structure chimique de ce composé a été étudiée par R. PARIS [70]. L'hydrolyse acide au bain-marie bouillant permet le dédoublement en un sucre, identifié au *glucose*, et un aglycone dont les caractères, en particulier la teneur en hydroxyle acétylable, en font une *trihydroxyflavone*.

Propriétés :

C'est une poudre cristalline jaune clair, lévogyre ($[\alpha]_D = -64^\circ$ dans l'alcool), insoluble dans l'eau froide, assez soluble dans l'alcool ; elle se dissout facilement en milieu alcalin et sa solution est jaune foncé.

Elle se colore en brun-vert par le chlorure ferrique.

Par ébullition avec un acide minéral, elle devient réductrice (hétéroside).

Ulexflavone :

Isolée pour la première fois par R. PARIS également [70], sa nature chimique a été étudiée par le même auteur. Contrairement au corps précédent, l'ulexflavone est indédoublable : il ne s'agit donc pas d'un hétéroside. D'autre part, son faible indice d'acétyle et ses réactions en font une *monohydroxyflavone*.

Propriétés :

L'ulexflavone est un corps finement cristallin, jaune ($F = 141^\circ$), inactif sur la lumière polarisée, insoluble dans l'eau, soluble dans l'alcool et l'éther. Il est facilement soluble dans les solutions alcalines en donnant une teinte variant du jaune-orangé au brun-rougeâtre.

Il se colore en vert-jaunâtre par le chlorure ferrique et en vert-fluorescent par le réactif citro-borique de WILSON.

DEUXIÈME PARTIE

ELECTROPHORÈSE : TECHNIQUES UTILISÉES

CHAPITRE I

GÉNÉRALITÉS SUR L'ÉLECTROPHORÈSE : L'ÉLECTRORHÉOPHORÈSE

A — L'ÉLECTROPHORÈSE : HISTORIQUE

L'électrophorèse est le transport de particules chargées soumises à un champ électrique : en faisant traverser un liquide conducteur par un courant électrique, entre deux électrodes, on peut voir les particules placées au sein de ce liquide se diriger suivant la nature et la grandeur de leur charge, soit vers l'anode, soit vers la cathode, et à des vitesses différentes. D'après WUNDERLY [105] et DURRUM [7], FIELD et TEAGUE [29] dès 1907 utilisèrent cette propriété pour séparer toxine et antitoxine diphtérique au sein d'un gel d'agar-agar. Trente ans plus tard et la même année (1937) KÆNIG [53] et TISELIUS [93] eurent l'idée de remplacer le support liquide ou gélifié par un papier filtre imbibé de liquide conducteur : la microélectrophorèse sur papier était née. Pour la voir entrer dans la pratique courante, il fallut attendre les travaux de HAUGAARD et KRONER [41] sur les amino-acides, et, surtout, ceux de CREMER et TISELIUS [25] sur les protéines : à partir d'une solution complexe, ils parvinrent, après électrophorèse et coloration de la bande de papier, à distinguer plusieurs spots correspondant aux différentes fractions d'albumine et de globuline et à évaluer quantitativement ces divers corps. On sait quelle importance cette technique a pu prendre en analyse médicale.

Cependant une difficulté subsistait : l'existence d'un courant liquide dû à l'évaporation par effet Joule s'opposant à la progression des ions. Les auteurs pensèrent alors supprimer

cet inconvénient en immergeant la bande de papier dans un liquide organique non miscible à l'eau : le chlorobenzène. SCHNEIDER et WUNDERLY [105] ajoutèrent à cette technique le refroidissement par courant d'eau. Au contraire DURRUM [28] apporta une simplification en enfermant le papier dans un espace clos formé par une cloche de verre. Cette précaution était, évidemment, insuffisante pour aboutir à la suppression totale de l'évaporation, aussi MACHEBŒUF, REBEYROTTE, BRUNERIE et DUBERT [59] cherchèrent-ils à utiliser le contre-courant d'évaporation en le régularisant au lieu de le supprimer. Ils apportèrent aussi quelques modifications à l'appareil, dont une des principales est de pouvoir se servir de bandes de papier plus larges, permettant plusieurs électrophorèses simultanées. Ils aboutirent ainsi à une technique nouvelle qu'ils nommèrent : **électrorhéophorèse**.

B — TECHNIQUE UTILISÉE : L'ÉLECTRORHÉOPHORÈSE.

Des raisons essentielles nous ont conduit à préférer cette dernière technique pour l'étude des alcaloïdes :

1) L'impossibilité d'immerger les bandes de papier dans un solvant organique dans lequel les alcaloïdes sont généralement solubles.

2) Les avantages découlant de l'existence du contrecourant, très appréciables pour l'étude de particules relativement mobiles, à savoir : ralentissement de la vitesse de migration entraînant une plus grande netteté des spots, utilisation d'extraits bruts, grâce au « lessivage » continu des substances en migration.

3) La possibilité d'effectuer simultanément plusieurs électrophorèses sur la même bande de papier, qui permet des comparaisons qualitatives et même des évaluations quantitatives, comme nous le verrons plus loin.

Pour les flavonoïdes, nous avons cependant été amené, dans certains cas, à utiliser, à cause de l'adsorption énergique de ces substances sur les fibres du papier, une méthode particulière d'électrophorèse en gélose.

Description de l'appareil (fig. 2) :

Un appareillage électrique G entretient un courant continu avec une tension stabilisée entre deux électrodes E et E' qui plongent dans le cylindre périphérique d'un système de deux bacs emboîtés. Ceux-ci communiquent entre eux par un petit orifice latéral et supérieur O ; cette disposition permet de retarder considérablement le mélange du liquide modifié au contact de l'électrode avec celui qui imbibe le papier P. Ce papier est placé sur un chevalet C et ses extrémités plongent dans les cylindres centraux

des bacs; il est recouvert d'un manchon en matière plastique M destiné à régler l'évaporation et à absorber les gouttelettes de condensation.

Fonctionnement :

Les bacs ayant été remplis de liquide conducteur jusqu'à un centimètre environ au-dessus de l'orifice de communication, on place la bande de papier sur le chevalet, ses extrémités trem-pant dans chacun des bacs. On mouille ensuite le papier avec le liquide, très régulièrement, jusqu'à deux centimètres environ du sommet; puis on laisse le liquide imbibé librement par capillarité la dernière partie de la bande.

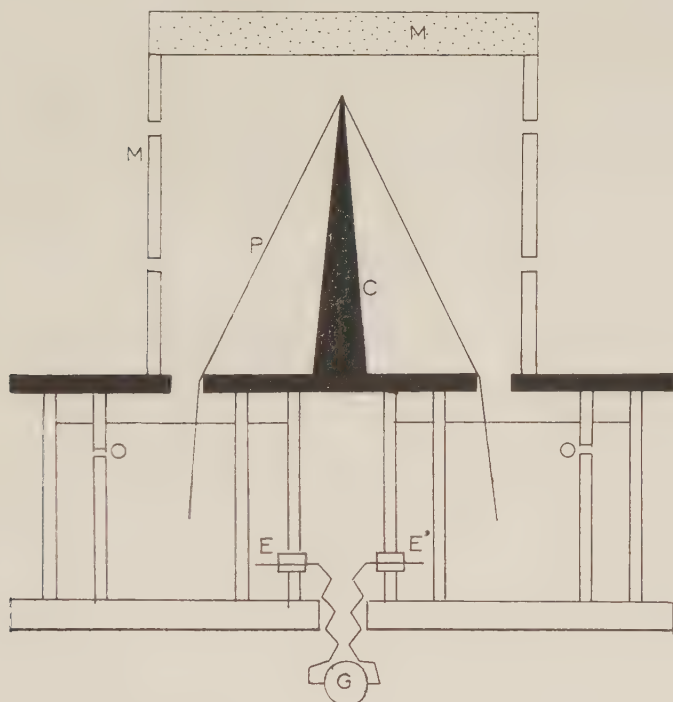


Fig. 2. — Schéma de l'appareil à électrorhéophorèse.

On dépose ensuite sur la ligne médiane MM' les solutés à étudier en utilisant des micropipettes de 25 mm³ divisées en fractions de 2,5 mm³.

Le volume de la prise d'essai est généralement de 2,5 ou 5 mm³, mais, si la concentration de la substance à étudier est

trop faible, on pourra sans inconvénient utiliser des quantités bien supérieures (jusqu'à 30 et 40 mm³), à condition de partir d'une solution peu visqueuse et de laisser s'écouler celle-ci très lentement par capillarité. Le corps à étudier reste condensé au point de dépôt et les spots obtenus sont identiques à ceux provenant d'une prise d'essai plus concentrée mais de plus petit volume.

Enfin on établit le contact, la durée de l'expérience est variable mais n'excède pas quatre heures. Pour des recherches qualitatives elle est de l'ordre de deux à trois heures. Pour des évaluations quantitatives, on utilisera le temps nécessaire pour obtenir une séparation des spots suffisante, sans prolonger l'expérience, afin d'éviter toute diffusion.

Après ce temps les bandes sont retirées et séchées à basse température car beaucoup d'alcaloïdes des Légumineuses sont volatils.

Théorie :

Comme l'ont montré MACHEBŒUF et REBEYROTTE [59] la vitesse V de déplacement des ions est la somme algébrique de trois vitesses élémentaires : (voir figure 3).

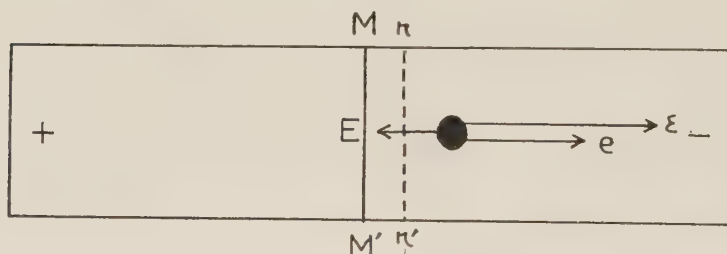


Fig. 3. — Schéma du déplacement des spots dans le cas d'un alcaloïde.

ε : vitesse de déplacement d'un ion par rapport à l'eau.

e : vitesse du courant d'électroendosmose.

E : vitesse du courant d'évaporation.

$$V = \varepsilon + e + E$$

ε représente la vitesse propre des ions ; sa grandeur dépend de leur nature et de leur charge et leur déplacement peut être orienté, selon le signe de la charge, vers la cathode ou vers l'anode. Dans la majorité des cas, les alcaloïdes, bases faibles, donnent des particules à propriétés de cations, au contraire les flavonoïdes, polyphénols, se comportent comme des anions.

e représente un courant continu de liquide déplacé par la tension électrique ; il est constant et dirigé vers la cathode.

E ou courant d'évaporation dépend de la surface sur laquelle s'exerce l'échauffement ; on comprend donc que son intensité croisse depuis le sommet du chevalet jusqu'au niveau de la cuve, et que son sens soit constamment opposé à celui des particules en migration.

Il en résulte que la ligne où le flux liquide est nul, n'est pas la ligne médiane MM' , mais une ligne $\pi\pi'$ située vers la cathode à l'endroit de l'équilibre : $e = E$. C'est sur cette ligne que viennent se rassembler les substances non chargées, et c'est cette ligne qui devra être considérée comme celle du déplacement nul.

CHAPITRE II

APPLICATION AUX ALCALOÏDES DES GÉNISTÉES

A — HISTORIQUE :

Les méthodes classiques de dosage des alcaloïdes chez les végétaux ne sont pas d'un usage pratique en physiologie végétale ; elles nécessitent d'une part une assez grande quantité de matériel, d'autre part elles obligent à de longues manipulations d'extraction et bien souvent ne permettent pas le dosage séparé des différents alcaloïdes.

La chromatographie de partage sur papier est déjà venue apporter une heureuse simplification. Elle a déjà été largement utilisée pour la détection et la séparation des alcaloïdes par de nombreux auteurs, et, en particulier, par MUNIER et MACHEBŒUF [68] en ce qui concerne les alcaloïdes des Légumineuses.

Etant donnée la nature basique des alcaloïdes, on pouvait prévoir une application simple de l'électrophorèse à leur étude. Cependant, comme nous l'avons vu, les premières utilisations de cette nouvelle méthode d'analyse orientèrent les recherches vers l'étude des protéines.

Au cours de nos travaux qui ont fait l'objet d'une publication préliminaire [74], nous avons eu connaissance des recherches de KARIYONE [52] sur quelques alcaloïdes purs, ainsi que de celles de GRAF et LIST [36] sur les alcaloïdes de l'opium et de *Chelidonium majus* L. Ces auteurs parviennent à des résultats quantitatifs en dosant titrimétriquement les principales substances éluées des spots ; ils emploient un électrolyte très acide. MARIANI [60], au contraire, se sert d'un tampon à pH 6 pour étudier les alcaloïdes de l'opium et cherche à séparer la morphine sous forme d'anion, grâce à sa fonction phénolique, en opérant en milieu alcalin. Mais cet essai reste sans succès.

Les alcaloïdes du groupe de la spartéine que nous nous proposons d'étudier sont des bases assez fortes et, en tous cas, toujours suffisamment solubles dans l'eau pour que leur étude soit possible, même en milieu alcalin. Cette dissolution est d'ailleurs facilitée par le courant d'évaporation, élément important de la méthode, qui met au contact des particules de grandes quantités de liquide.

Nous verrons plus loin (cf. page 47) les avantages découlant de la possibilité d'opérer dans des liquides de pH très divers [74].

B -- PARTICULARITÉS TECHNIQUES DE L'ÉLECTROPHORÈSE DES ALCALOÏDES :

1) CONDITIONS EXPÉRIMENTALES :

Mode de dépôt des substances et durée de l'expérience.

Comme nous l'avons vu, un des avantages de la méthode est l'utilisation de solutés ou d'extraits bruts divers. C'est ainsi que les extraits végétaux ou les solutés purs d'alcaloïdes, en milieu aqueux comme en milieu alcoolique, donnent des résultats identiques. Nous n'avons constaté également aucune différence en déposant les corps à étudier sous forme de bases ou de sels et quelle que soit l'acidité de leur solution. Nous devons cependant signaler que, dans certains cas, on peut observer des trainées ou un ralentissement des spots provenant d'un extrait végétal, qui entraîne un décalage de ceux-ci par rapport à ceux des substances pures : ces inconvénients se produisent surtout en milieu alcalin, mais, généralement, une simple dilution de l'extrait suffit à les faire disparaître.

2) RÉVÉLATION DES SPOTS :

Cette opération est particulièrement importante et doit être effectuée dans des conditions très précises, surtout s'il s'agit d'évaluer quantitativement chaque alcaloïde.

Nous avons passé en revue les différentes réactions générales ou particulières des alcaloïdes dans le but de trouver une méthode permettant un dosage photométrique éventuel.

Le problème à résoudre est de pouvoir utiliser un réactif donnant une coloration suffisamment intense sans toutefois altérer ou teinter trop fortement le papier. Deux procédés nous ont donné des résultats satisfaisants : l'un basé sur la réaction de DRAGENDORFF, l'autre utilisant l'iode comme révélateur.

— Réaction de Dragendorff :

Le réactif de DRAGENDORFF est constitué par une solution acide d'iodobismuthate de potassium. De nombreuses formules en ont été proposées utilisant les acides chlorhydrique, sulfurique ou acétique ; ce dernier entre en particulier dans la composition du réactif employé par MONTAUDO et MONTAUDO [68] pour la révélation des spots après chromatographie ; aussi avons-nous songé en premier lieu à l'utiliser. Mais, si les corps à mettre en évidence sont révélés avec une grande finesse et le papier peu coloré, le contraste reste faible et il est difficile d'obtenir un fond parfaitement homogène. Ce sont les formules à base d'acide chlorhy-

drique qui nous ont donné les meilleurs résultats. Nous avons retenu celle de FRANÇOIS et SÉGUIN [30] :

Carbonate de bismuth	5 gr.
Eau distillée	50 ml.
Délayer et ajouter :	
Acide chlorhydrique pur	10 ml.
Après dissolution ajouter :	
Iodure de potassium	25 gr.
Compléter à 100 ml. avec de l'eau distillée.	

On obtient ainsi une solution mère qu'il faut diluer au moment de l'emploi ; elle se conserve une dizaine de jours à l'abri de la lumière

Il nous est apparu que le mode de dilution jouait un rôle primordial dans le résultat final par :

1) L'acidité du liquide dilué : des essais effectués sur des taches d'alcaloïdes purs montrent que l'acidité finale doit être voisine de celle de l'acide chlorhydrique N/10. Pour une même dilution du réactif, avec des solutions plus acides les spots sont d'autant moins apparents que l'acidité du liquide dilué s'éloigne plus de cette valeur ; avec des solutions moins acides le réactif est instable et précipite et le papier se colore de façon irrégulière.

Temps de stabilité du réactif	liquide de dilution
dilué au 1/25	
Plusieurs heures	ClH N
Plusieurs heures	ClH N/2
1/2 heure	ClH N/10
5 minutes	ClH N/20
2 minutes	ClH N/50
Décomposition immédiate	Eau distillée

2) L'importance de la dilution : elle ne doit pas s'écarter beaucoup de 1/20 : au-dessous le papier est trop fortement coloré et au-dessus le précipité alcaloïdique est instable. (Cf. figure 4).

Le mode de révélation intervient également et, pour obtenir des colorations nettes, on doit proscrire absolument la pulvérisation et immerger la bande totalement et en une seule fois dans le réactif. Il est ensuite nécessaire de l'essorer aussitôt entre des feuilles de papier filtre non réducteur. Enfin la dessiccation doit se faire à basse température de façon à éviter la décomposition du réactif ou la volatilisation des alcaloïdes ; il faut opérer à une température inférieure à 40°.

Par cette méthode, les spots alcaloïdiques apparaissent colorés en rouge sur fond jaune ; la coloration est d'ailleurs diffu-

rente selon les alcaloïdes envisagés. Dans le cas des substances que nous avons étudiées elle varie du violet-rose à l'orangé, comme nous le verrons dans la dernière partie de ce travail. Ces variations sont intéressantes pour l'identification des bases mais elles rendent difficile l'évaluation quantitative au photomètre de certains alcaloïdes dont les spots ne présentent pas un contraste suffisant avec le papier, et elles ne permettent pas la comparaison directe de taches de couleurs trop différentes.

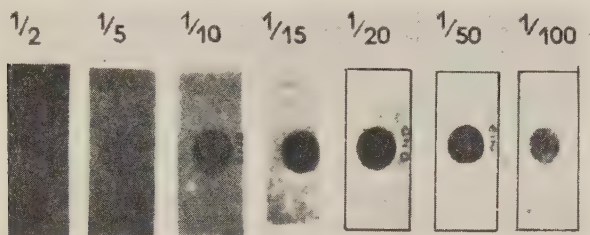


Fig. 4. — Influence de la dilution sur la netteté des spots d'alcaloïdes révélés par le réactif de DRAGENDORFF.

(Toutes les taches ont été faites avec 5 mm³ d'une solution à 0,10 % de sulfate de spartéine.)

C'est pourquoi nous avons recherché une réaction donnant des spots de couleur identique pour tous les alcaloïdes, dont le maximum d'absorption se trouve dans le bleu-violet, pouvant ainsi être évalués dans de bonnes conditions au photocolorimètre.

Nous avons été ainsi amené à mettre au point la réaction suivante :

— Réaction à l'iode et à l'amidon :

Le principe en est le suivant : l'iode fixé au niveau des alcaloïdes dans un premier temps est révélé par l'amidon dans un deuxième temps ; il se forme de l'iodure d'amidon intensément coloré en bleu.

Premier temps : fixation de l'iode : le réactif iodo-ioduré de BOUCHARDAT est inutilisable sur papier ; les composés iodés se détruisent rapidement en solution diluée, et, en solution concentrée, le papier retient l'excès de réactif. Il en est de même pour les solutés alcooliques ou acétoniques d'iode (solutions brunes). En revanche, les solutions d'iode dans le benzène ou le chloroforme (solutions violettes) donnent de bons résultats sauf en présence de corps favorisant la fixation de l'iode sur le papier — comme le véronal, par exemple —. Nous avons finalement retenu la solution chloroformique d'iode ; la concentration optimum en iode

est comprise entre 0,50 et 2 grammes pour mille ; au-dessus de 2 ‰ le papier reste coloré et au-dessous de 0,50 ‰ les spots sont imparfaitement révélés : nous avons donc employé une solution à 1 ‰.

Deuxième temps : révélation par l'amidon : l'excès d'iode s'élimine facilement par simple volatilisation à la température ordinaire, laissant des taches jaune-brun qui virent au bleu foncé par addition d'empois d'amidon. Toutefois, il faut se trouver en milieu suffisamment acide, sinon la coloration vire au brun à la dessiccation ; il faut aussi opérer en présence d'iodure et ajouter un stabilisant pour éviter la destruction de l'iodure d'amidon sur le papier humide ; l'acide salicylique, préconisé par TURNER [94] pour le microdosage de l'iode par formation d'iodure d'amidon, convient parfaitement.

Ces remarques nous ont donc conduit à mettre au point la technique suivante : la bande à développer est d'abord trempée dans une solution chloroformique d'iode à 1 %. On laisse sécher à l'air jusqu'à disparition totale de l'iode excédentaire, les spots apparaissent colorés en brun. On immerge ensuite dans le réactif suivant :

Amidon de blé	2 grammes
Eau distillée	200 ml.

(délayer l'amidon dans l'eau et porter à l'ébullition pendant 10 minutes, ajouter alors :

Acide salicylique	0,30 gramme
-------------------------	-------------

après dissolution, refroidir. Ce réactif peut se conserver plusieurs jours. Au moment de l'emploi ajouter :

Iodure de potassium à 1 %	0,50 ml.
Acide chlorhydrique pur	2,00 ml.)

Après avoir essoré rapidement entre deux feuilles de papier filtre *non réducteur*, on sèche enfin à l'étuve à 37°.

Dans ces conditions les alcaloïdes apparaissent colorés en bleu-violet sur le fond du papier sensiblement blanc. Il faut signaler cependant que cette méthode n'est pas spécifique des alcaloïdes et qu'elle peut mettre en évidence d'autres substances capables de retenir l'iode dans les mêmes conditions.

Réactions particulières :

Il serait intéressant de pouvoir pratiquer sur papier des réactions spécifiques de tel ou tel alcaloïde ; malheureusement, les inconvénients cités plus haut limitent beaucoup les possibilités.

En ce qui concerne le groupe des alcaloïdes étudiés, nous avons essayé sans succès une application de la réaction découverte par JORISSEN [51], qui, sans être spécifique, est assez caractéris-

tique de la spartéine et de la lupinine : coloration orangée en présence de soufre et d'hydrogène sulfuré, ou de sulfure d'ammonium polysulfuré.

Par contre, il est possible de révéler cytisine et anagyridine grâce à leur coloration rouge en présence de chlorure ferrique. La bande à étudier est trempée dans une solution alcoolique à 1 % de chlorure ferrique. Après dessiccation, les spots de ces alcaloïdes apparaissent en rose sur fond jaune.

3) ACTION DE DIFFÉRENTS FACTEURS :

Afin d'opérer dans les meilleures conditions, nous avons cherché à agir sur les différents facteurs conditionnant l'électrophorèse. Ceux-ci peuvent être généraux, c'est-à-dire agissant simultanément et dans le même sens sur la vitesse de déplacement des ions, ou, au contraire, particuliers, c'est-à-dire modifiant différentiellement les vitesses ioniques en altérant la nature même de l'ion. L'intérêt de l'étude particulière de ce deuxième type de facteurs est évident lorsqu'il s'agit de séparer le plus électivement possible des substances chimiquement voisines.

a — Facteurs généraux : dans ce groupe nous pouvons ranger tout ce qui peut modifier le champ électrique. En particulier, la tension appliquée aux électrodes et la force ionique de l'électrolyte dans la mesure où elle agit sur sa conductivité. Entrent également dans cette catégorie les facteurs agissant passivement sur la progression des ions tels que viscosité de l'électrolyte, intensité des courants d'électroendosmose et d'évaporation, qualité du papier utilisé.

Nous nous sommes efforcé de maintenir tous ces facteurs aussi constants que possible pendant la durée de nos expériences. De cette façon, les résultats obtenus sont comparables entre eux et reproductibles. Mais, cependant, nous avons toujours préféré les exprimer en valeur relative par rapport à des témoins rigoureusement soumis aux mêmes conditions.

Toutes les expériences ont été faites avec l'appareil décrit ci-dessus qui maintient une différence de potentiel constante de 10 volts/cm, et une intensité de 0,5 milliampères cm. A condition d'utiliser des électrolytes de force ionique suffisante et de viscosités voisines, les courants liquides d'électroendosmose et d'évaporation par effet Joule restent constants si la température ambiante est maintenue fixe : nous l'avons fixée à $20^{\circ}\text{C.} \pm 1^{\circ}$. Enfin, nous avons toujours employé le papier Arches n° 301 de dimensions 6×25 cm.

b — Facteurs particuliers : nous les avons définis comme propres à modifier la nature même des ions et par là permettre

leur isolement différentiel. Deux sortes d'actions sont facilement réalisables ; ce sont : la formation de combinaisons chimiques différemment chargées ; l'action directe sur la charge des ions en modifiant le pH de l'électrolyte. La force ionique de l'électrolyte peut également avoir une action sur les ions en modifiant les doubles couches électriques entre parois des particules et molécules du solvant ou même les phénomènes capillaires du papier. Mais cette action reste limitée pour une variation faible de la force ionique, et, dans le cas des alcaloïdes que nous avons étudiés, qui ont des structures chimiques très voisines, elle peut être considérée comme négligeable. Tout au plus devons-nous signaler qu'avec des électrolytes trop dilués, on peut voir, comme des essais nous l'ont montré, les spots se déformer et des trainées apparaître.

Il est donc nécessaire d'utiliser des solutions assez concentrées.

Si l'influence de la force ionique est faible, il n'en est pas de même de celle du pH : l'aspect de l'électrophérogramme se modifie très rapidement pour une variation, même faible, du pH de l'électrolyte. Aussi nous a-t-il paru essentiel d'étudier ce point tout particulièrement.

Étude de l'influence du pH des électrolytes :

Nous avons constitué en premier lieu une gamme d'électrolytes permettant d'effectuer des électrophorèses de pH 1,5 à pH 12. Au cours de ce travail il nous est apparu que les solutions utilisées devaient répondre à des exigences très strictes pour que les résultats soient reproductibles.

Tout d'abord, leur stabilité doit être parfaite pendant toute la durée de l'expérience : la composition du liquide ne doit pas se modifier au niveau du papier ; il ne doit pas se former des substances pouvant réagir sur les corps à étudier, soit en les altérant, soit en formant un complexe inactif ; et le pH ne doit pas s'écarter de plus de 0,1 unité de sa valeur initiale.

Cette condition n'est pas remplie avec les solutions d'acides minéraux : en particulier l'acide chlorhydrique produit au bout de quelques minutes une trop grande quantité de chlore gazeux. Les sels des acides minéraux, en solution non tamponnée, entraînent assez rapidement une importante et dissymétrique variation du pH au niveau du papier. Les bases fortes comme la soude donnent des solutions visqueuses et échauffent considérablement le papier. Par contre, les solutions d'acides organiques présentent une plus grande stabilité. L'acide acétique 5 N a été utilisé par KARYONE [52] et l'acide formique à 10 % par GRAF et LIST [36]. Dans de nombreux cas, nous avons employé l'acide formique 2 N qui présente l'avantage d'être entièrement et facilement volatil lors du séchage

des bandes ; il ne peut donc intervenir dans les réactions de révélation des spots.

Les solutions salines tamponnées remplissent également cette première condition de stabilité et le pH ne varie pas au niveau du papier si l'on a soin d'inverser le sens de passage du courant après chaque expérience. Nous nous sommes servi avec succès des mélanges tampons acide citrique-citrate de sodium, phosphate monopotassique-phosphate disodique, véronal-véronal sodique et acide borique-borate de sodium

La deuxième condition à remplir est de ne pas gêner la révélation des spots. C'est ainsi que le tampon véronal-véronal sodique est inutilisable dans le cas où l'on doit révéler les alcaloïdes par l'iode, ce dernier corps se fixant alors fortement sur le papier.

En tenant compte de ces données, nous avons pu retenir les formules suivantes :

pH 1,5 : Acide formique 2 N

pH 3 : tampon acide citrique-citrate de sodium :

Acide citrique 0,5 M	1000 ml.
Citrate de sodium 0,2 M	200 ml.

pH 5 à 8 : tampon phosphate disodique phosphate monopotassique

Solution A (pH = 9,24) :

phosphate disodique crist.	11,87 g.
Eau, q. s. p.	1000 ml.

Solution B (pH = 4,55)

Phosphate monopotassique	9,07 g.
Eau, q. s. p.	1000 ml.

	solution A (ml)	solution B (ml)
--	-----------------	-----------------

pH 5	15	985
------	----	-----

pH 7	630	370
------	-----	-----

pH 8	944	56
------	-----	----

pH 8,6 : Tampon véronal-véronal sodique :

Véronal	1,84 g.
Véronal sodique	10,30 g.
Eau, q. s. p.	1000 ml.

pH 9,7 : Tampon acide borique M/30-borate de sodium M/20

Acide borique	2,06 g.
Borate de sodium	19,07 g.
Eau, q. s. p.	1000 ml.

pH 12 : ammoniacale à 10 %

Ammoniaque officinale pure	100 ml.
Eau, q. s. p.	1000 ml.

A l'aide de ces électrolytes, nous avons soumis à l'électrophorèse cinq échantillons d'alcaloïdes purs du groupe du lupinane, en disposant sur la ligne de départ d'une même bande 2,5 mm³ d'une solution aqueuse à 0,5 % des corps suivants :

- 1 : spartéine : sulfate de spartéine officinal (Sulfate neutre de l-spartéine)
 $C_{15}H_{26}N_2, SO_4H_2, 5 OH_2$ ($F = 145^\circ$ (sel anhydre))
 2 : lupinine : dl-lupinine de synthèse (2) base $C_{10}H_{19}NO$ ($F = 66^\circ-69^\circ$)
 3 : lupanine : dl-lupanine base (1) $C_{15}H_{24}N_2O$ ($F = 97^\circ-98^\circ$)
 4 : anagyrine : perchlorate d'anagyrine (2) $C_{15}H_{20}N_2O, ClO_4H$ ($F = 315^\circ$)
 5 : cytosine : nitrate de cytosine : $C_{11}H_{14}N_2O, 2NO_2, 2OH_2$ (se décompose à la chaleur)

Nous avons également déterminé la position de la ligne de déplacement nul : $\pi\pi'$ en déposant une microgoutte de solution de dextrose.

Après deux heures de passage du courant, nous avons révélé les spots par le réactif de DRAGENDORFF : les alcaloïdes apparaissent en rouge et la dextrose en gris.

4) RÉSULTATS :

Malgré toutes les précautions prises pour éliminer les causes d'erreurs dues à des variations des conditions expérimentales au cours de l'électrophorèse, la distance parcourue en un temps donné par une même substance n'est pas rigoureusement constante. D'une mesure à l'autre on constate souvent de légères différences. En revanche, la position relative des spots reste pratiquement constante puisque les seules variations possibles s'exercent dans le même sens et avec la même intensité pour tous les ions. C'est pourquoi nous exprimons les résultats par des valeurs relatives. Nous avons pris arbitrairement la distance parcourue par la spartéine comme unité ; cet alcaloïde est en effet le plus employé du groupe et il est aussi celui dont le déplacement est en général le plus grand, en particulier en milieu alcalin.

La figure 5 représente les positions des spots après deux heures d'expérience, dans les huit électrolytes. Pour la clarté de la lecture nous avons réuni en une courbe les points obtenus avec un même alcaloïde ; cette courbe n'a évidemment aucune valeur expérimentale précise, les résultats n'étant comparables, comme nous l'avons dit, que pour une même bande, surtout en opérant avec des électrolytes de nature diverse. Mais elle donne une idée juste des variations des déplacements en fonction du pH.

La figure 6 est la photographie par contact des spots des principaux alcaloïdes du groupe du lupinane séparés après 2 h 30 en milieu alcalin et révélés au réactif à l'iode et à l'amidon.

(1) Nous sommes heureux de remercier ici Monsieur le Professeur JANOT de la Faculté de Pharmacie de Paris, qui nous a fourni des échantillons témoins de d- et dl-lupanine.

(2) Nous remercions également Monsieur le Professeur RIBAS de l'Université de Santiago de Compostela, qui nous a aimablement envoyé un échantillon d'anagyrine et Monsieur le Professeur WINTERFELD de Bonn qui a mis à notre disposition de la dl-lupinine dont il a réalisé la synthèse.

Déplacements en cm. après 2 h.

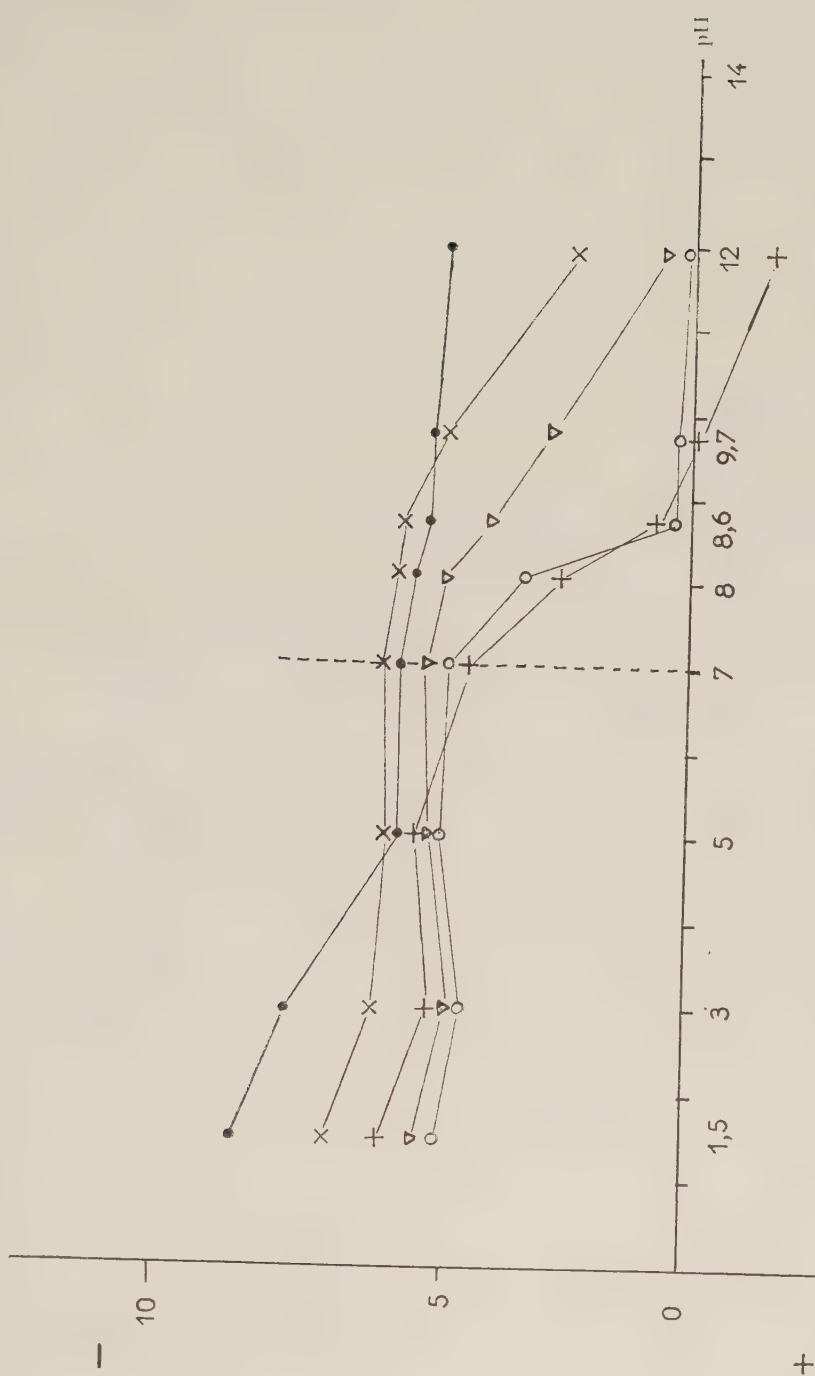


Fig. 5. — Influence du pH sur la séparation des principaux alcaloïdes du groupe du lupinane.
 L'origine O est la ligne de déplacement nul : $\pi-\pi'$
 • spartéine × lupinine Δ lupanine + cytosine ○ anagyrene

TABLEAU I

Déplacement moyen des alcaloïdes en fonction du pH
(le déplacement de la spartéine étant pris pour unité)
Durée de l'électrophorèse : 2 heures.

pH.....	1,5	3,0	5,0	7,0	8,0	8,6	9,7	12
Spartéine	1	1	1	1	1	1	1	1
Lupinine	0,70	0,85	1,03	1,05	1,03	1,10	0,97	0,66
dl-lupanine	0,62	0,69	0,92	0,96	0,93	0,84	0,71	0,31
Anagyrene	0,60	0,65	0,93	0,92	0,78	0,42	0,40	0,32
Cytisine	0,68	0,75	0,96	0,85	0,67	0,44	0,37	-0,10(+)
d-lupanine	0,62	0,69	0,92	0,96	0,93	0,84	0,71	0,31
Génistéine	0,95	—	—	—	—	1	—	1
Sarothamnine	0,80	—	—	—	—	1	—	1
Choline (+ +)	0,94	1,20	—	—	—	2,2	1,4	1,8

(+) La cytisine se trouve alors dans la partie anodique du papier.

(+ +) Après une heure d'expérience car, après deux heures, le spot aurait dépassé les limites du papier, en milieu alcalin.

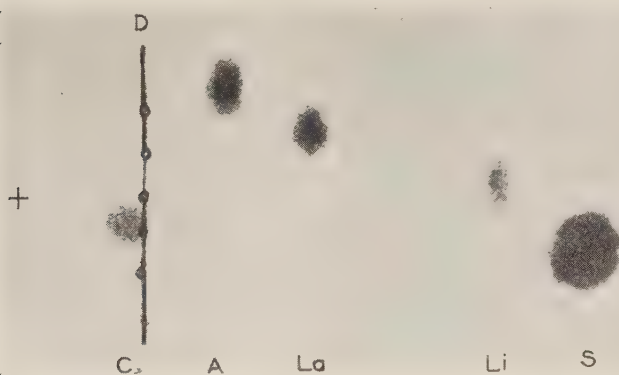


Fig. 6. — Séparation des principaux alcaloïdes du groupe du lupinane.

Electrophorèse à pH 12 (ammoniaque à 10 %) : durée 2 heures 30, révélation : réactif à l'iode et à l'amidon.

D = ligne de départ La = lupanine
C = cytisine Li = lupinine
A = anagyrene S = spartéine
(enregistrement photographique de contact.)

Le tableau I groupe l'ensemble des résultats exprimés en valeur relative, la distance parcourue par la spartéine étant prise pour unité. Nous avons ajouté dans ce même tableau quelques chiffres obtenus au cours de l'étude particulière de certaines espèces ; par exemple avec la génistéine et la sarothamnine du *Sarothamnus scoparius* K., la d-lupanine du *Lupinus albus* L. et la choline de

l'Ulex europaeus L. Les échantillons de référence de ces corps sont les suivants :

génistéine (1) : génistéine base $C_{15}H_{26}N_2$ ($F = 60^\circ$).

sarothamnine (1) : sarothamnine base ($F = 173-174^\circ$).

d-lupanine : chlorhydrate de d-lupanine $C_{15}H_{24}N_2O$, ClH , $2H_2O$ ($F = 127^\circ$).

choline : chlorure de choline officinal $C_5H_{14}ONCl$ ($F = 240^\circ$).

Conclusions : Positions des spots :

1) Comme la théorie pouvait le laisser prévoir les vitesses de migration sont beaucoup plus considérables en milieu acide, les alcaloïdes, bases faibles, étant alors dans des conditions optima d'ionisation.

2) La lupanine jusqu'à pH 9,7 et la lupinine jusqu'à pH 12 ont une vitesse de migration assez forte ; on ne note aucune modification de la vitesse de la spartéine de pH 5 à pH 12.

3) Le sens du déplacement est toujours cathodique, pour tous les alcaloïdes et à tous les pH, sauf pour la cytisine à pH 12 où il devient anodique, le spot restant en deçà de la ligne $\pi\pi'$.

4) Le spot de la d-lupanine ne se sépare pas de celui de la dl-lupanine.

5) La génistéine et la sarothamnine sont confondues avec la spartéine à pH 8,6 et 12.

6) Enfin, la choline se comporte, comme on pouvait le prévoir, d'une façon très différente des alcaloïdes du groupe du nor-lupinane : son déplacement a bien une direction cathodique mais sa vitesse, comparable à celle des alcaloïdes en milieu acide, devient beaucoup plus grande en milieu alcalin, le maximum étant à pH 8,6.

Technique proposée : Deux remarques s'imposent :

1) Il apparaît très nettement sur la figure 5 que, pour obtenir une bonne séparation des spots, il est nécessaire de se trouver soit en milieu très acide ($pH < 3$) soit en milieu alcalin ($pH > 8$). Aux environs de la neutralité et en milieu faiblement acide les différences de vitesses de migration sont faibles.

2) Dans la zone alcaline, la décroissance des vitesses étant très différente pour chaque alcaloïde, on peut parvenir à de faciles séparations à condition d'opérer à un pH approprié : ainsi la lupinine, la lupanine et la cytisine ont, à pH 1,5, des spots très voisins ; ces trois alcaloïdes se différencient au contraire très bien à pH 8,6 ou 9,7.

Il est donc très intéressant de soumettre à plusieurs électrophorèses simultanées dans des milieux de pH différents, les

(1) Ces produits ont été aimablement mis à notre disposition par Monsieur le Professeur R. DELABY, de la Faculté de Pharmacie de Paris. Nous sommes heureux de le remercier ici.

extraits végétaux à étudier. On peut ainsi réunir plusieurs données pour l'identification des alcaloïdes. Cette méthode est à rapprocher de la chromatographie sur papier à l'aide de phases solvantes acides ou alcalines.

Dans la majorité des cas, nous employons trois électrolytes choisis dans les zones de pH où la séparation est la meilleure : 1,5, 8,6 et 12. Dans trois bacs branchés sur le même générateur, nous soumettons simultanément à l'électrophorèse des prises d'essai identiques d'extraits à étudier et de témoins. Chaque bande ayant été révélée au réactif de DRAGENDORFF, nous calculons la position de chaque spot par rapport à la spartéine et nous notons sa couleur. La comparaison avec les alcaloïdes témoins permet d'identifier certains spots avec certitude.

C — ÉVALUATION DE LA TENEUR EN ALCALOÏDES DES SPOTS :

1) PRINCIPE :

Nous avons appliqué aux alcaloïdes une méthode photométrique analogue à celle qui est déjà couramment utilisée pour l'évaluation des différentes fractions de protéines isolées par électrophorèse.

La bande révélée est rendue transparente par imprégnation d'huile de paraffine. Elle est ensuite analysée à l'aide d'un photomètre enregistreur. Nous avons utilisé l'appareil construit par la maison LÉRES ; le principe en est le suivant : un faisceau lumineux traverse la bande et vient frapper une cellule photoélectrique ; le courant débité alimente un galvanomètre à miroir dont le spot impressionne un papier photographique. Ce papier est entraîné à la même vitesse que la bande d'électrophorèse. Le spot trace donc une courbe représentant les variations de la lumière absorbée au niveau des taches. Chaque tache d'alcaloïde est ainsi analysée en une courbe qui peut être assimilée à une courbe de GAUSS élémentaire, donc asymptote à l'origine (c'est-à-dire à une droite horizontale représentant la coloration simple du papier par le réactif). Pratiquement, on peut négliger les particules trop dispersées par rapport au centre du spot d'alcaloïde et considérer que chaque clocher d'enregistrement rejoint l'origine.

Ainsi, les surfaces d'enregistrement de chaque spot délimitent avec l'origine des surfaces proportionnelles à la quantité d'alcaloïde mis en œuvre. Ces surfaces, mesurées au planimètre, peuvent être comparées entre elles sous certaines conditions, ou bien peuvent servir à l'établissement d'une courbe d'étalonnage et, par là, à des dosages en valeur absolue.

2) TECHNIQUE :

a — **Étalonnage :**

Nous avons tout d'abord effectué une série d'expériences avec des alcaloïdes purs de façon à fixer les conditions d'utilisation de cette technique, et à établir la loi permettant de calculer la teneur en alcaloïde de la prise d'essai en fonction des surfaces d'enregistrement.

Ces conditions sont les suivantes :

1) Enregistrement photométrique : la sensibilité est maximum avec un écran de couleur bleu-vert et de faible densité optique : le filtre WRATTEN CC 20 C a donné les meilleurs résultats.

2) Révélation des spots : on emploiera le réactif de DRAGENDORFF dilué au 1/25 dans l'acide chlorhydrique N/10.

3) Détermination de l'origine : le photomètre sera réglé au zéro en plaçant le faisceau lumineux entre les spots révélés ou au voisinage de ceux-ci, de façon à réduire la cause d'erreur due à une hétérogénéité éventuelle de la coloration du papier. Par ce point enregistré, on tracera une droite horizontale.

— *Etablissement de la courbe* représentant les variations des surfaces d'enregistrement en fonction de la quantité d'alcaloïde mise en œuvre :

Nous prendrons pour exemple l'étude de la spartéine : l'expérience suivante a été réalisée : sur la même bande de papier nous soumettons simultanément à l'électrophorèse dans l'acide formique 2 N, quatre dilutions de sulfate de spartéine. Après une heure, nous révélons et analysons les quatre spots au photomètre, puis nous mesurons les surfaces d'enregistrement au planimètre. Le résultat est consigné dans le tableau II.

TABLEAU II

Etalonnage à partir de quatre dilutions de sulfate de spartéine.

	Sulfate de spartéine 0,1 M + eau q. s. p. 2 ml. (en ml.)	spartéine base		surfaces (en cm ²)
		dans la solution (en %)	dans la prise d'essai (en γ)	
1	0,2	0,042	1,05	1,0
2	0,3	0,063	1,6	1,5
3	0,5	0,105	2,6	2,3
4	1,0	0,210	5,2	4,8

La figure 7 représente d'une part les spots isolés et la courbe d'enregistrement leur correspondant et, d'autre part, la courbe représentant les variations de la surface d'enregistrement (en

ordonnée) en fonction de la quantité de spartéine mise en œuvre (en abscisse).

Dans les conditions définies ci-dessus cette courbe peut être assimilée à une droite passant par l'origine, pour des quantités d'alcaloïdes comprises entre les limites suivantes (en gammas) :

spartéine	: 0,2 à 7
cytisine	: 0,2 à 8
anagyrine	: 0,2 à 8
lupanine	: 1,0 à 20
choline	: 3,0 à 50

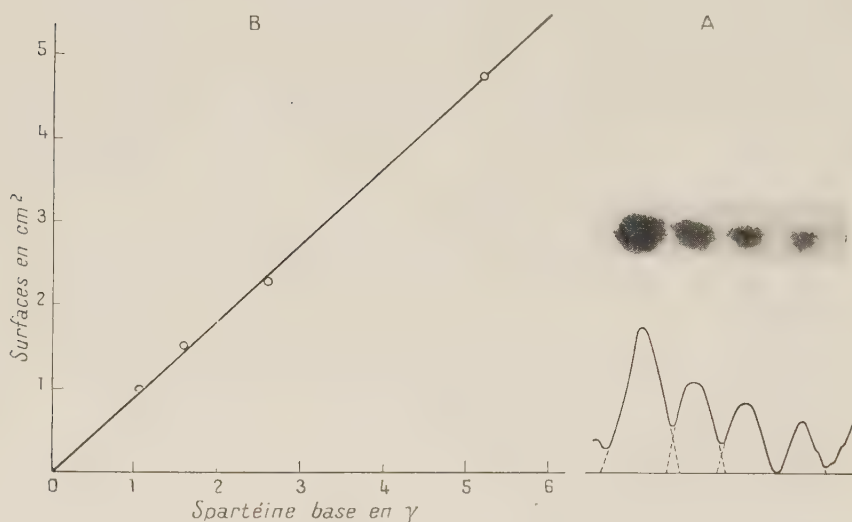


Fig. 7. — Evaluation quantitative de la teneur en alcaloïde des spots isolés par électrorhéophorèse : Etalonnage à l'aide de 4 dilutions d'une solution de sulfate de spartéine.

Durée de l'expérience : 1 heure. Electrolyte : acide formique 2 N (pH = 1,5). Révélation : réactif de DRAGENDORFF. Enregistrement photométrique sous écran Wratten n° CC20C.

A. Spots isolés et courbe d'enregistrement leur correspondant.

B. Courbe d'étalonnage représentant les surfaces délimitées par les courbes de GAUSS élémentaires et l'origine, en fonction des quantités d'alcaloïdes mises en œuvre.

Ces différences s'expliquent, pour les alcaloïdes, par la couleur des spots : la lupanine donne une coloration beaucoup moins contrastée avec le fond du papier ; elles se traduisent également par la pente de la courbe d'étalonnage, comme nous le verrons plus loin.

Il est possible de reculer les limites de sensibilité de cette

méthode en utilisant, à la place des bandes elles-mêmes, une photographie de contact sur film transparent. On élimine ainsi le fond coloré du papier et les courbes d'enregistrement des taches noires d'argent ont des surfaces très supérieures à celles obtenues avec les spots colorés. Des essais nous ont montré que les résultats sont comparables avec ceux que nous obtenons par photométrie directe.

— *Variations de la pente des courbes d'étalonnage :*

1) Influence de l'électrolyte :

En soumettant à l'électrophorèse sur une même bande de papier quatre dilutions de sulfate de spartéine :

— en milieu acide (acide formique 2 N, pH = 1.5)

— en milieu alcalin (tampon véronal-véronal sodique à pH = 8,6).

et en établissant les courbes de variation de la surface d'enregistrement en fonction de la quantité d'alcaloïde mise en œuvre, comme ci-dessus, on obtient deux droites ; mais, en milieu acide, la pente est plus accentuée.

2) Influence de la durée de l'expérience :

Plus l'expérience se prolonge et plus les spots s'agrandissent par dispersion de l'alcaloïde : le résultat des mesures photométriques reste sensiblement le même mais les courbes de GAUSS s'aplatissent et les mesures de surfaces y perdent en précision. Cependant, en opérant en un temps trop court, les spots sont très condensés et la courbe d'enregistrement devient très aiguë, donnant également une surface délicate à mesurer et une photométrie incorrecte, par suite de l'inertie de l'appareil enregistreur.

Aussi convient-il de poursuivre l'expérience au moins une demi-heure, même si la plante étudiée ne renferme qu'un seul alcaloïde. Dans le cas de mélanges complexes, il faut arriver à une nette séparation des divers spots ; ainsi doit-on attendre deux heures au moins pour séparer anagrine et cytosine. On limitera donc la durée de l'expérience au temps nécessaire pour obtenir une bonne séparation des spots, sans la prolonger. Dans la plupart des cas une électrophorèse d'une heure convient très bien.

3) Influence de la nature de l'alcaloïde :

Nous avons vu que les colorations différentes des alcaloïdes conduisent à des enregistrements variables suivant la nature des bases ; aussi la pente de la droite représentant les surfaces obtenues en fonction des quantités de substances mises en œuvre est-elle différente pour chaque alcaloïde (figure 8).

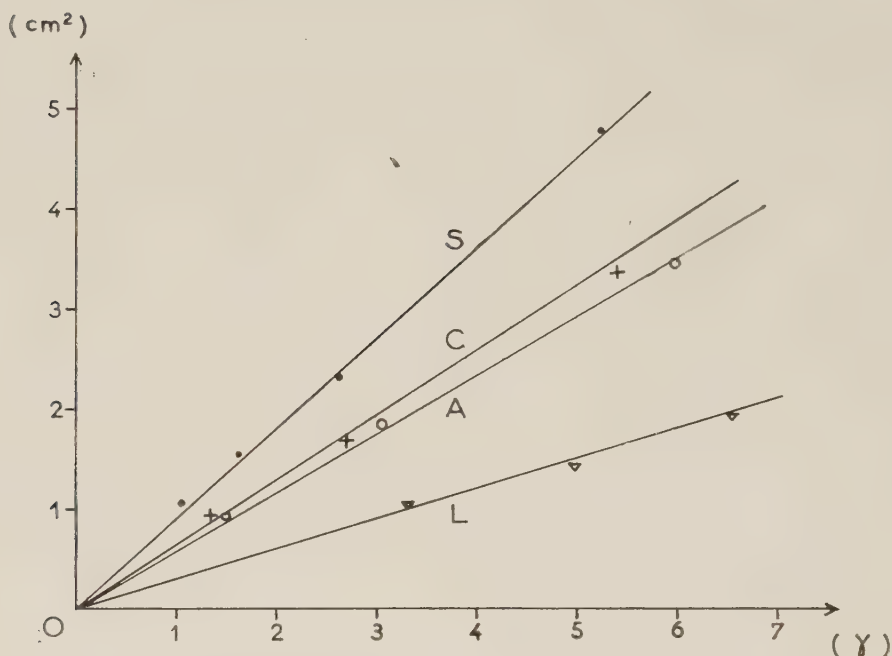


Fig. 8. — Courbes d'étalonnage pour les principaux alcaloïdes témoins utilisés.
 En abscisse : alcaloïdes bases en γ dans la prise d'essai.
 En ordonnée : surfaces d'enregistrement des spots révélés au réactif de DRAGENDORFF.
 S : sparteïne ; C : cytisine ; A : anagyrine ; L : lupanine.

— Vérification de la séparation quantitative des alcaloïdes d'un mélange.

Cette expérience est nécessaire pour s'assurer que les alcaloïdes en mélange dans une solution se retrouvent quantitativement dans les spots isolés par électrophorèse.

Nous avons pris pour exemple l'association sparteïne-lupanine qui est réalisée dans les graines de diverses Génistées (*Sarothamnus scoparius* K., *Genista purgans* L.).

L'expérience est la suivante : sur une même bande de papier nous soumettons à l'électrophorèse trois mélanges renfermant des proportions déterminées de ces deux alcaloïdes :

mélange A	sparteïne	base	0,20 %	2 parties
	lupanine	base	0,20 %	1 partie
mélange B	sparteïne	»	»	1 »
	lupanine	»	»	1 »
mélange C	sparteïne	»	»	1 »
	lupanine	»	»	2 »

prise d'essai : 5 mm³ ; électrolyte : acide formique 2 N (pH = 1,5) ; durée : 1 heure.

Le tableau III groupe les résultats.

On voit que la séparation a été totale puisque les proportions du mélange initial se retrouvent dans les spots avec une bonne approximation (Erreur maximum : $8/66 = 12 \%$).

TABLEAU III

Vérification de la séparation quantitative des alcaloïdes d'un mélange.

	mélange A	mélange B	mélange C
l-spartéine base %	1,32	1,00	0,66
l-spartéine base dans la prise d'essai (en γ)	6,6	5,0	3,3
surface d'enregistrement (en cm^2)	4,8	3,7	2,7
l-spartéine base ‰ retrouvée (1)	1,32	1,04	0,74
dl-lupanine base ‰	0,66	1,00	1,32
dl-lupanine base dans la prise d'essai (en γ)	3,3	5,0	6,6
surface d'enregistrement (en cm^2)	1,0	1,4	1,9
dl-lupanine base retrouvée (1) ...	0,69	0,96	1,32

(1) Nous avons supposé intégralement retrouvées les quantités de spartéine et de lupanine mises en œuvre dans les mélanges les plus riches en ces alcaloïdes (A pour la spartéine et B pour la lupanine).

b — Évaluation des alcaloïdes d'une plante :

— Préparation des extraits :

Nous avons choisi pour l'extraction l'alcool acétique à 2 % qui est un excellent solvant de tous les alcaloïdes des Génistées. Les plantes sèches sont réduites en poudre grossière, puis une prise d'essai de l'ordre de 0,20 à 1 gramme, exactement pesée, est soumise, soit à la lixiviation dans un micropercolateur par l'alcool acétique jusqu'à épuisement de la drogue, soit à la macération pendant 24 heures dans le même solvant. Pour les plantes fraîches, la macération est obligatoire, après broyage.

Pour chaque échantillon, nous avons déterminé la teneur en eau en desséchant une partie de la poudre ou de la plante fraîche dans une étuve à 100° jusqu'à poids constant, de façon à pouvoir rapporter les résultats à la plante sèche.

Généralement, nous avons ajusté les extraits ainsi préparés au 1/10 du poids initial de plante, Mais il est parfois nécessaire de partir de solutés plus concentrés, ou moins concentrés, suivant l'échantillon envisagé : nous indiquerons ces détails lors de l'exposé des résultats .

— *Electrophorèse* :

Les extraits sont soumis à l'électrophorèse dans les conditions déterminées ci-dessus. Une fois les spots révélés, trois cas peuvent être envisagés :

1) Mesure du pourcentage des différents alcaloïdes d'une même plante : la bande est découpée dans le sens de la longueur et analysée au photomètre. Les surfaces d'enregistrement de chaque spot sont ensuite comparées entre elles, compte tenu des différences de coloration s'il s'agit d'une révélation par le réactif de DRAGENDORFF, en se rapportant aux courbes d'étalonnage de chaque alcaloïde.

2) Comparaison des teneurs en un même alcaloïde de divers échantillons : dans ce cas, la bande sera découpée dans le sens de la largeur au niveau de l'alcaloïde envisagé, puis développée de la même façon.

3) Dosage en valeur absolue d'un alcaloïde déterminé : sur la ligne de départ d'une même bande, on soumet à l'électrophorèse, d'une part l'extrait à analyser et, d'autre part trois ou quatre dilutions croissantes et de titre connu de l'alcaloïde à doser. Après développement, les spots provenant de l'alcaloïde pur servent à établir une courbe d'étalonnage, comme nous l'avons vu plus haut (cf. page 49). En y reportant la valeur de la surface d'enregistrement de la tache issue de l'extrait végétal, on en déduit sa teneur en alcaloïdes.

CHAPITRE III

APPLICATION AUX FLAVONOÏDES DES GÉNISTÉES

A — HISTORIQUE :

L'étude des dérivés flavoniques a pris une importance sans cesse croissante ces dernières années à la suite de la découverte de leurs propriétés pharmacodynamiques. L'extraction et le dosage de ces substances sont des problèmes délicats [73]. Comme, dans le cas des alcaloïdes, la chromatographie de partage sur papier a apporté de nombreuses possibilités à leur étude. Les travaux de BATHE SMITH en 1949 [1] puis ceux de WENDER et GAGE [100], de PARIS [71 bis] et de HANSEL [39], ont abouti à l'élaboration de nouvelles techniques de séparation.

En 1952 HASHIMOTO, MORI et KIMURA [40] et en 1953 KARIYONE [52] effectuèrent différents essais sur les flavonoïdes les plus courants. Ces auteurs opéraient en appliquant aux extrémités du papier un voltage élevé (500 v.). Nous avons cherché à utiliser l'appareillage électrique servant à l'étude des alcaloïdes (cf. page 32). Mais, dans certains cas, nous avons été amené à modifier profondément la technique.

B — PARTICULARITÉS TECHNIQUES DE L'ÉLECTROPHORÈSE DES FLAVONOÏDES :

Les dérivés flavoniques, substances polyphénoliques, se comportent comme des acides faibles, à condition toutefois de se trouver en milieu alcalin. D'autre part, ces corps sont de véritables « colorants » d'ailleurs utilisés pratiquement (pouvoir tinctorial du *Genista tinctoria* L., du *Reseda luteola* L.) ; ils se fixent énergiquement sur les fibres du papier et cet inconvénient nous a obligé, dans certains cas, à utiliser un autre support : le gel de gélose.

Nous décrirons donc les deux techniques suivantes :

a — ÉLECTROPHORÈSE SUR PAPIER :

1) CONDITIONS EXPÉRIMENTALES :

a) Appareillage, théorie.

Nous employons l'appareil décrit plus haut (voir page 32) et dans les conditions de l'étude des alcaloïdes.

La formule donnant la vitesse de déplacement des ions : $V = \varepsilon + e + E$ ne peut être appliquée aux flavonoïdes à cause de l'intervention d'un nouveau facteur dont l'importance peut devenir primordiale : l'adsorption des particules à étudier sur les fibres du papier. C'est pourquoi l'arrêt des ions en un point déterminé pour une expérience de longue durée ne saurait être considéré comme celui de l'équilibre $\varepsilon = e + E$.

La durée des électrophorèses peut être prolongée sans inconvénient ; on la modifiera suivant l'extrait envisagé. Ainsi, pour les flavonoïdes du *Sarothamnus scoparius* K. la séparation est suffisante en deux heures trente ; au contraire, les spots issus d'un extrait d'*Ulex* ne sont bien séparés qu'après cinq à six heures de passage du courant.

b) Préparation des extraits et mode de dépôt.

L'alcool éthylique bouillant à 95° est un excellent solvant général des dérivés flavoniques, aussi l'avons-nous utilisé dans la majorité des cas :

— Pour les végétaux frais nous avons fait une décoction, de façon à stabiliser la plante, car ces substances s'oxydent facilement par dessiccation.

— Pour les végétaux secs nous avons fait suivre la décoction d'une lixiviation par l'alcool à 95° froid.

Un autre solvant des dérivés flavoniques est l'eau alcaline ; nous avons préparé des extraits par macération dans les liquides conducteurs utilisés pour l'électrophorèse (solution tampon de véronal-véronal sodique ou de borate de sodium-acide borique). Les résultats sont identiques quel que soit le procédé extractif employé.

Comme pour les alcaloïdes, la nature du soluté déposé sur la ligne de départ n'a pas d'influence sur le résultat final. Mais il faut éviter des solutions trop concentrées en flavonoïdes ou trop visqueuses, afin qu'il ne persiste pas de substance au point de départ. D'autre part, il est souvent préférable de déposer les gouttes sur une ligne située du côté de la cathode, de façon à réduire la grandeur des courants liquides s'opposant à la progression des ions. En effet, les flavonoïdes se comportant comme des anions, le courant d'électroendosmose e vient s'ajouter à celui d'évaporation E pour contrarier le cheminement des particules dans la partie anodique du papier.

2) RÉVÉLATION DES SPOTS.

— Coloration propre des dérivés flavoniques :

Nous savons que ces substances tirent leur nom de leur couleur jaune (du latin *flavus* = jaune). D'une façon générale, les

spots apparaissent en jaune vif car l'électrophorèse doit se faire obligatoirement en milieu alcalin. Or nous avons vu plus haut (cf. page 27) qu'une des réactions caractéristiques des flavonoïdes était le renforcement de leur coloration en milieu alcalin.

— **Fluorescence en lumière ultra-violette :**

L'examen en lumière de Wood est le procédé le plus sensible de révélation des dérivés flavoniques. Les spots apparaissent avec une intense fluorescence brune à jaune vif, selon la nature des corps.

Mais cette propriété n'est nullement spécifique et de nombreuses substances se comportent d'une manière analogue ; aussi sera-t-il nécessaire de vérifier l'identité de chaque spot à l'aide d'autres réactions.

Un autre inconvénient de ce procédé est l'impossibilité d'examiner la bande hors de la lumière ultra-violette et de ne pouvoir obtenir d'image fixe. Une opération simple permet de remédier à cet inconvénient : la bande de papier à révéler jouant le rôle d'un négatif photographique est mise en contact avec la face sensible d'un film et on l'expose à la lumière ultraviolette pendant quelques secondes. Après développement, les spots fluorescents apparaissent en blanc sur fond noir. Il s'agit d'un « pseudo-positif » car la lumière de fluorescence n'a pas été enregistrée ; au contraire, chaque tache de substance fluorescente a transformé la lumière ultra-violette très active sur la plaque photographique, en une lumière visible de plus petite longueur d'onde et beaucoup moins active. Le résultat final est analogue à celui que nous obtiendrions en faisant la même opération avec des taches colorées et en lumière ordinaire. Nous reproduisons plus loin plusieurs clichés pris dans ces conditions.

— **Réaction au chlorure ferrique :**

Grâce à leurs fonctions phénol, les dérivés flavoniques donnent des colorations avec le chlorure ferrique. La couleur des spots ainsi révélés est variable selon le groupe chimique (vert, violacé, gris, brun) et son intensité est d'autant plus grande que le nombre d'hydroxyles est plus élevé. Mais la sensibilité de cette réaction reste faible. Pratiquement, on immergera la bande sèche dans une solution de chlorure ferrique à 1 % dans l'alcool à 95°.

3) ACTION DE DIFFÉRENTS FACTEURS :

— **Qualité du papier :**

Dans le cas des flavonoïdes l'étude de ce facteur revêt une grande importance à cause de l'affinité de ces corps pour les fibres

cellulosiques. Nous avons utilisé trois sortes de papier de texture différente : Whatman n° 1, Arches n° 1030, Arches n° 301.

En employant des bandes de mêmes dimensions et dans des conditions expérimentales identiques aucune différence n'a été constatée quant à la position, la forme ou les réactions des spots issus d'un même extrait végétal.

— **Électrolyte :**

Comme pour les alcaloïdes, nous avons fait une série d'expériences destinées à fixer les conditions optima.

Les exigences auxquelles doit répondre le liquide conducteur pour être utilisable sont les mêmes que celles décrites plus haut (cf. page 42), mais l'étude de l'influence du pH de l'électrolyte sur le déplacement des ions conduit à des conclusions très différentes.

— L'électrophorèse des flavonoïdes n'est possible qu'en milieu alcalin : au-dessous de pH 8 la migration est nulle. Cette condition découle probablement de leur nature phénolique ; la propriété acide faible et par là la dissociation des phénols en ions exige pour se manifester la présence d'une base.

— Avec certains liquides conducteurs il se forme de véritables complexes dont les différences de charge électrique permettent une bonne séparation des spots. C'est cette propriété qui intervient en particulier si l'on effectue l'électrophorèse dans le tampon borico-boraté, comme l'a indiqué HASHIMOTO [40]. On peut d'ailleurs la mettre en évidence en soumettant à l'électrophorèse les mêmes extraits, d'une part dans un tampon phosphate à pH 9 et d'autre part dans un tampon borico-boraté au même pH. La migration est plus grande, les spots ont des positions différentes et sont beaucoup plus intensément colorés en présence d'ions boriques.

— **Influence d'un mouillant :**

La précédente technique a donné dans certains cas des résultats décevants à cause de la forte adsorption des flavonoïdes sur les fibres du papier :

1) ralentissement considérable (ainsi après 6 heures le spot. du scoparoside se trouve à 1 cm. seulement de la ligne de départ).

2) élongation des spots : les substances qui migrent le mieux donnent souvent des spots de forme allongée (substance F₂ du *Sarothamnus*).

3) enfin persistance d'une partie des corps étudiés au point de départ. C'est pourquoi nous nous sommes demandé s'il ne serait pas possible de diminuer ces inconvénients en ajoutant au liquide conducteur une substance capable de modifier les phénomènes d'adsorption et les phénomènes capillaires, c'est-à-dire une substance tensio-active. Nous avons essayé sans succès le

monooléate de polyoxyéthylènesorbitol ou Tween 80; mais une nette amélioration a été apportée en dissolvant 1 % de sulfate de lauryle et de sodium dans les électrolytes. La figure 20 (page 101) représente les résultats obtenus avec un même extrait et dans les mêmes conditions en opérant d'une part dans le tampon pur et d'autre part dans le même liquide additionné de 1 % de sulfate de lauryle et de sodium.

Mais, pour obtenir une séparation rapide et des spots d'une netteté parfaite nous avons songé à remplacer le support par un support n'ayant aucune action sur les dérivés flavoniques : le gel de gélose.

b — ÉLECTROPHORÈSE EN GÉLOSE :

Ce procédé est déjà ancien puisque FIELD et TEAGUE [29] l'ont utilisé dès 1904 ; il a été repris en 1949 par GORDON, KEIL et SEBESTA [34] pour des recherches sur les protéines. En 1951, PENISTON, AGAR et Mc CARTHY [76] ont employé un tube garni de gélose conductrice pour séparer vanilline, acide férulique et acide vanillique. GRABAR et WILLIAMS [35] ont opéré avec une plaque de gélose coulée sur une lame de verre.

— Appareillage :

Nous avons pu facilement mettre au point une technique simple utilisant l'appareil déjà employé.

Le chevalet est remplacé par une lame de verre horizontale L sur laquelle on coule une plaque de gélose qui est l'homologue de la bande de papier. A chaque extrémité, deux fragments de papier mince P assurent le contact entre cette plaque et les électrodes. Une deuxième lame de verre L' est placée sur la plaque de gélose à l'enfermer dans un espace clos. On évite ainsi sa dessiccation et son échauffement au cours de l'expérience. Enfin, une cloche de verre V recouvre tout l'appareillage et évite en particulier l'évaporation du liquide conducteur.

— Technique :

L'électrolyte est constitué par le tampon borico-borate à pH 9.7 déjà décrit plus haut (cf. page 43). Le support est obtenu en gélifiant ce liquide par addition de 3 % de gélose.

Sur la plaque L qui doit être mince et parfaitement plane on trace, à l'aide d'un crayon gras, un rectangle allongé de dimensions définies (ayant 6 centimètres de largeur sur 15 de longueur, par exemple) et à la surface inférieure de la lame on peut inscrire les points de départ et les indications utiles. Dans le rectangle, on coule un volume de gélose fondue, très fluide, tel que la plaque finale ait un millimètre d'épaisseur (pour l'exemple ci-dessous).

9 ml.). Une fois la gélose solidifiée, on dépose à l'aide d'une micro-pipette les extraits à analyser dissous dans le gel lui-même et liquéfiés à basse température : cette microgoutte doit s'incorporer rapidement à la masse sans s'étaler ou former de dépôt trop saillant. On place la plaque entre les bacs renfermant l'électrolyte et on établit le contact à l'aide de deux petites bandes de papier filtre chevauchant de chaque extrémité de la lame de gélose. On recouvre alors la gélose de la deuxième feuille de verre L' et on branche sur le générateur électrique. Enfin on enferme l'ensemble de l'appareil sous la cloche de verre V.

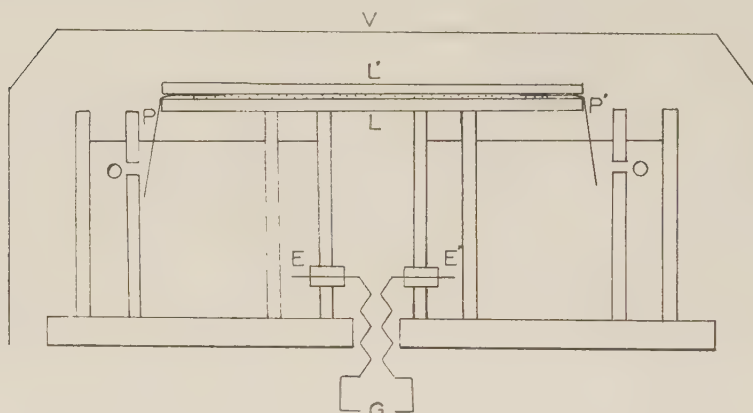


Fig. 9. — Schéma de l'appareillage pour électrophorèse en gélose.

Après une à deux heures, on retire les plaques de verre contenant la gélose, on applique à la partie inférieure la face sensible d'un film ou d'un papier photographique, on expose quelques secondes à la lumière de WOOD, puis on développe le film.

Ce procédé, identique à celui que nous avons décrit page 57 est indispensable dans le cas de l'électrophorèse en gélose car la plaque ne peut se conserver.

Afin de pratiquer des réactions caractéristiques, on retire la lame de verre supérieure L' et on recouvre la gélose d'une feuille de papier pour électrophorèse. Les flavonoïdes migrent dans le papier au cours de la dessiccation. On possède alors un témoin semblable à une bande d'électrophorèse sur papier et sur celle-ci on peut faire les colorations caractéristiques, en particulier la réaction au chlorure ferrique.

Par cette méthode on obtient, au bout d'un temps plus court, de meilleures séparations et des spots plus nets qu'avec l'électrophorèse sur papier.

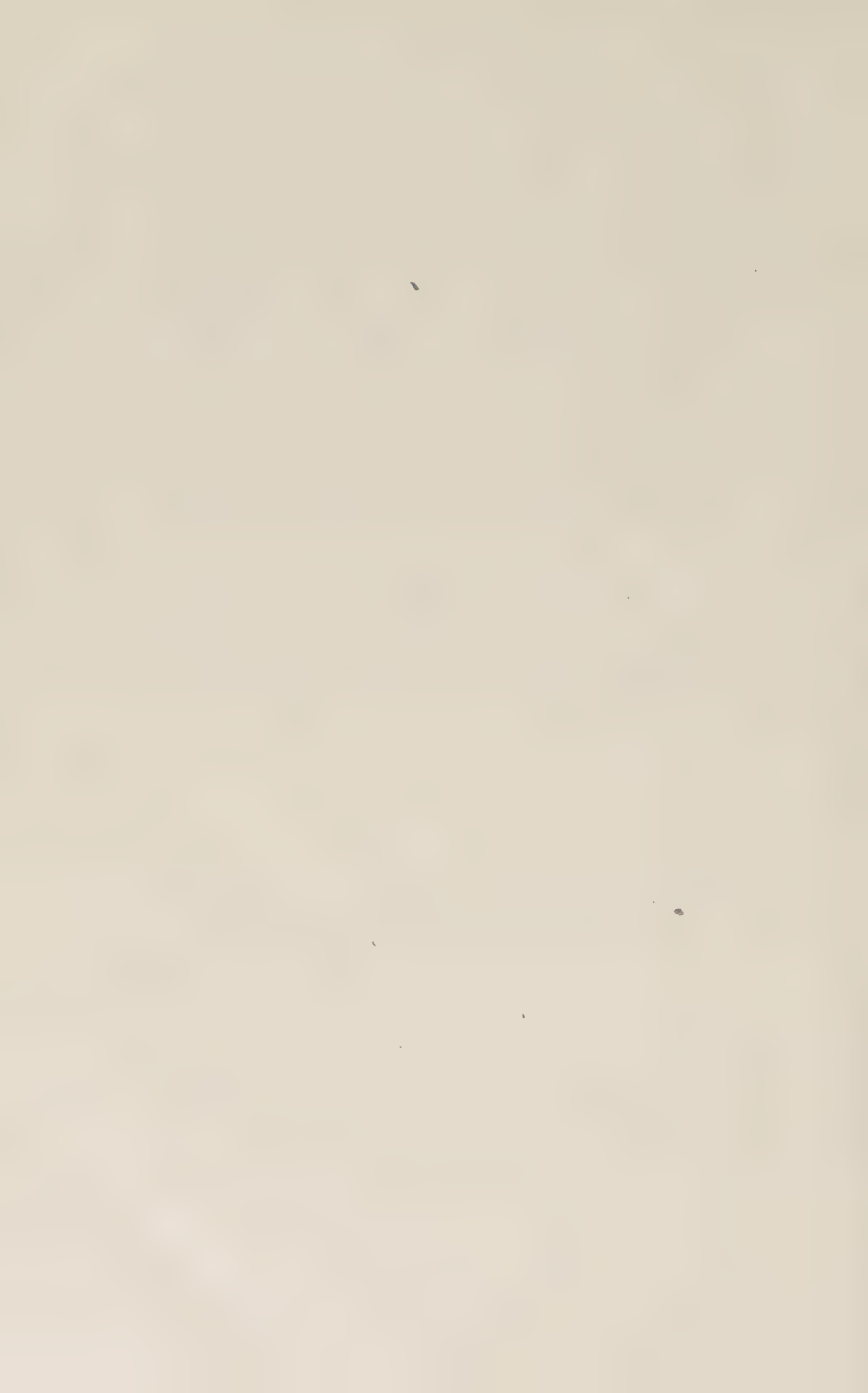
C — ESSAI D'ÉVALUATION DE LA TENEUR EN FLAVONOÏDES DES SPOTS :

L'application d'une méthode photométrique directe est impossible dans le cas des flavonoïdes ; d'une part, l'obtention sur papier de spots suffisamment nets n'est pas toujours réalisée et, d'autre part, après révélation, les colorations ne sont pas assez contrastées avec la teinte du papier. Aussi avons-nous pensé étudier une application quantitative faisant suite à l'électrophorèse en gélose. La seule possibilité est d'utiliser non pas la coloration propre des spots ni leur lumière de fluorescence, beaucoup trop faibles, mais l'enregistrement photographique de la lumière ultra-violettes absorbée au niveau des spots.

L'emploi d'une image photographique a déjà servi de base à une technique de dosage des acides aminés à partir des spots de chromatogrammes, comme l'ont décrit DARMON et FAUQUEMBERGUE [26].

Nous avons fait quelques essais d'enregistrement de photographies de spots renfermant des quantités connues, croissantes, de scoparoside. Les surfaces délimitées par les courbes de GAUSS et l'origine (voir page 48) semblent, pour certaines concentrations en flavonoïdes, être proportionnelles aux quantités mises en œuvre.

Nous regrettons de n'avoir pu approfondir cette étude.



TROISIÈME PARTIE

APPLICATION

DES TECHNIQUES PROPOSÉES A L'ÉTUDE DES ALCALOIDES ET DES FLAVONOÏDES DE QUELQUES GÉNISTÉES INDIGÈNES

CHAPITRE I

ÉTUDE DU GENRE *SAROTHAMNUS*

Le genre *Sarothamnus*, tel que le définit COSTE [24] ne comprend, en France, que deux espèces dont l'une est aussi rare et peu connue (*Sarothamnus catalaunicus* Webb., des Pyrénées orientales) que l'autre est répandue et utilisée (*Sarothamnus scoparius* K.).

SAROTHAMNUS SCOPARIUS K.

La célébrité du genêt à balai comme drogue populaire et officielle nous incite à commencer l'exposé des résultats de ce travail par cette plante.

1) CARACTÈRES BOTANIQUEs :

Arbrisseau de 1 à 2 mètres, dressé ; rameaux lâches, allongés, très anguleux, verts ; feuilles inférieures trifolioliées, pétiolées, les supérieures simples et sessiles ; fleurs grandes, calice glabre, carène très courbée, *style enroulé en cercle* ; gousses de 4-5 cm. sur 8 mm., très comprimées, hérissées de longs poils sur les bords, à 8-12 graines luisantes.

Le genêt à balai se rencontre dans une grande partie de l'Europe ; c'est une des Génistées les plus largement répandues, son aire de répartition englobant celles de plusieurs autres espèces. Il est cependant plus commun dans les régions occidentales, surtout en terrain siliceux, et, il est rare dans les régions méditerranéennes.

2) ÉTUDE DES ALCALOÏDES :

Historique : On doit à STENHOUSE [92], en 1851, la découverte de la spartéine dans le genêt à balai. MOUREU et VALEUR [67] en précisèrent plus tard la constitution et VALEUR trouva dans les résidus de sa fabrication deux autres alcaloïdes : la génistéine [97] et la sarothamnine [96]. Depuis, le *Sarothamnus scoparius* K. a fait l'objet de plusieurs études, mais, en général, celles-ci avaient pour but l'amélioration du rendement de l'extraction de la spartéine à partir des tiges ; aussi ne faut-il pas s'étonner si la présence de lupanine et d'hydroxylupanine dans les graines n'a été reconnue que tout récemment, en 1953, par JAMINET [48], grâce à la chromatographie sur papier, alors que nous avons déjà commencé ce travail.

Une première série de recherches a été consacrée à l'identification des alcaloïdes de la plante, puis à leur dosage dans les différents organes.

Dans une deuxième série d'expériences, les variations qualitatives et quantitatives de ces substances ont été suivies au cours de la végétation. En particulier, nous avons étudié les transformations qui se produisent au cours de la formation et de la maturation du fruit.

a — MATÉRIEL D'ÉTUDE ET CONDITIONS D'EXPÉRIENCE :

Nous avons travaillé sur trois lots principaux d'échantillons, provenant de régions différentes :

— **Lot n° 1** : région parisienne (plaine) ; plantes robustes de deux mètres de haut environ, croissant dans un terrain sablonneux acide en bordure de la forêt de Chantilly (Oise) ; floraison mi-juin. C'est sur une même plante de ce lot que nous avons suivi la formation du fruit.

— **Lot n° 2** : Massif Central (altitude moyenne : 500 m.) ; plantes de taille un peu moins grande que les précédentes, poussant sur un terrain amphibolitique non acide des environs de Seilhac (Corrèze) ; floraison un peu plus tardive.

— **Lot n° 3** : Massif Central (altitude 1200 m.) ; plantes se trouvant à la limite extrême de leur végétation en altitude et dont la morphologie est profondément modifiée : les rameaux sont courts et épais, la hauteur totale du végétal ne dépassant pas 0,50 m. environ. Le terrain est formé par des laves trachytiques peu acides du Puy de Sancy ; la floraison a lieu à la mi-juillet.

Tous les échantillons examinés ont été traités comme il a été indiqué plus haut (cf. page 53). Par macération ou lixiviation de la poudre grossière dans l'alcool à 60° acétique à 2 %, nous avons préparé des teintures au 1/10 en ajustant à un volume

déterminé. Nous avons traité des plantes fraîches aussi souvent que possible en les faisant macérer, soit dans l'alcool acétique, soit dans l'acide sulfurique dilué à 1 %.

D'autre part, dans le but d'évaluations quantitatives, nous avons déterminé, pour chaque prélèvement, la teneur en eau.

b — RÉPARTITION DES ALCALOÏDES DANS LES DIVERS ORGANES DE LA PLANTE :

— Étude qualitative :

Par la technique d'électrophorèse décrite ci-dessus nous avons pu mettre en évidence, chez *Sarothamnus scoparius* K. quatre alcaloïdes.

Le plus important, qui apparaît sous forme d'un spot violet, est la spartéine. On la rencontre dans presque tous les organes. Cependant, nous ne l'avons trouvée ni dans les racines, ni dans les gousses mûres, ni dans certaines graines mûres.

Par des électrophorèses en milieu acide, nous avons pu observer l'apparition d'un spot orangé ; ses caractères ne permettent de le rapporter à aucun des alcaloïdes décrits jusqu'alors chez *Sarothamnus scoparius* K.. Ce spot est confondu avec celui de la spartéine après deux heures d'expérience à pH 8,6 et 12 ; sa position par rapport à celle-ci est 0,65 à pH 1,5 (Cf. fig. 10). Le fait de ne pas se distinguer de la spartéine en milieu alcalin le rapproche des alcaloïdes secondaires découverts par VALEUR : génistéine et sarothamnine, mais sa position en milieu acide le différencie nettement de ces deux corps dont les positions sont, dans ces conditions, respectivement : 0,95 et 0,80. Cet alcaloïde que nous appelons A₁ se rencontre surtout, en effet, dans les tiges ; nous l'avons mis en évidence dans tous les échantillons de cet organe. Il apparaît aussi dans tous les extraits de gousses non mûres étudiés. D'une façon générale, il semble accompagner la spartéine dans une proportion assez constante. Nous avons également vérifié qu'il ne pouvait s'agir d'un produit d'altération de la spartéine en traitant un témoin de cet alcaloïde dans des conditions identiques à celles de la préparation de nos extraits.

Les deux derniers alcaloïdes que nous avons mis en évidence ne se rencontrent pas en dehors de la graine (Fig. 10). L'un d'eux a été identifié avec certitude à la lupanine, l'autre ne correspond à aucun des témoins que nous possédions ; cependant, son spot est identique à l'un de ceux donné par l'extrait de graines de *Lupinus albus* L. (1) aussi pensons-nous qu'il doit vraisemblablement

(1) Nous remercions sincèrement M. C. ANSELME de l'I.N.R.A. qui nous a aimablement fourni plusieurs échantillons de lupins.

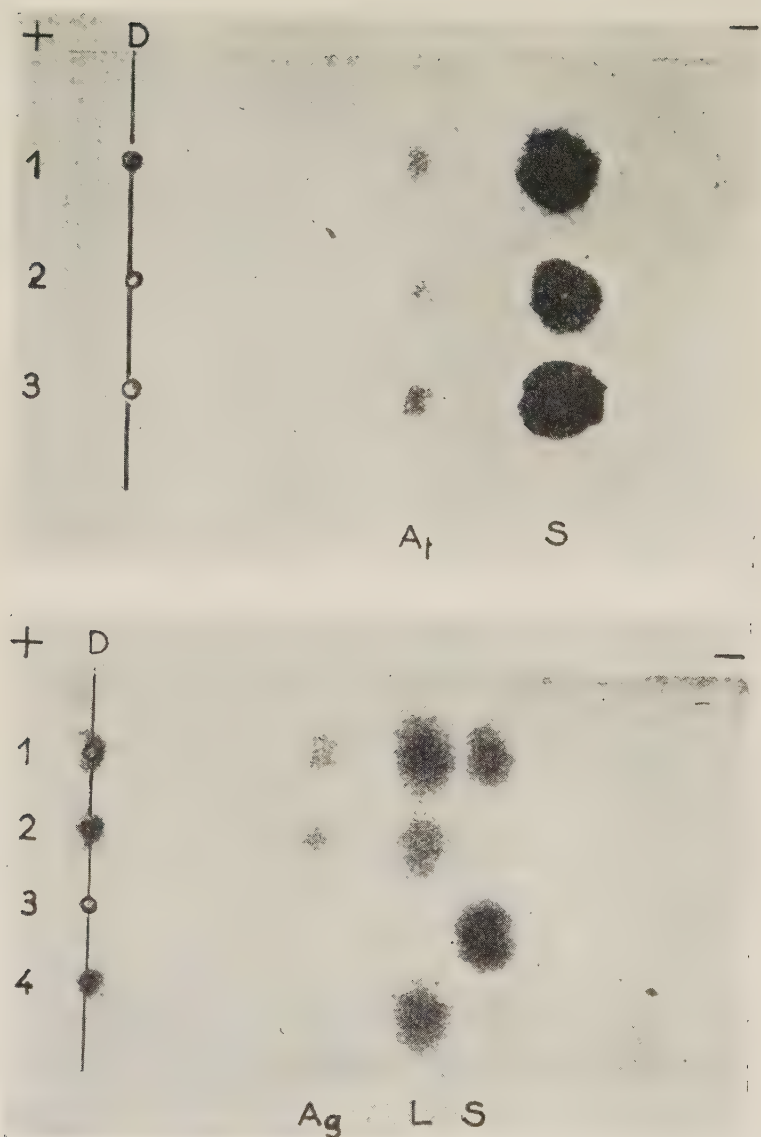


Fig. 10. — Alcaloïdes de *Sarothamnus scoparius* K.

En haut : alcaloïdes de la tige (lot n° 3); électrophorèse à pH 1,5 (acide formique 2 N); durée : 2 heures; révélation au réactif de DRAGENDORFF. 1 : tiges de mars; 2 : tiges d'août; 3 : tiges d'octobre; S = spartéine; A_t = alcaloïde non identifié; D = ligne de départ

En bas : alcaloïdes de la graine (lot n° 1); électrophorèse à pH 8,6 (tampon véronal-véronal sodique); révélation au réactif de DRAGENDORFF. 1 : graine verte; 2 : graine mûre; 3 : témoin de l-spartéine; 4 : témoin de d-lupanine; L = lupanine; S = spartéine; A_g = alcaloïde non identifié; D = ligne de départ (enregistrements photographiques de contact.)

TABLEAU IV

Alcaloïdes du *Sarothamnus scoparius* K.

Organe		Position des spots, après 2 h., celle de la spartéine étant prise pour unité, à pH			Coloration	Identifié à
		1,5	8,6	12		
Racine		0	0	0	—	—
Tige	1 ^{er} spot	1	1	1	violet	spartéine
	2 ^e »	0,65	1	1	orangé	A _t (non identifié)
Feuille		1	1	1	violet	spartéine
Fleur		1	1	1	violet	spartéine
Gousse	1 ^{er} spot	1	1	1	violet	spartéine
	2 ^e »	0,65	1	1	orangé	A _t (non identifié)
Graine	1 ^{er} spot	1	1	1	violet	spartéine
	2 ^e »	0,62	0,84	0,31	vermillon	lupanine
	3 ^e »	—	0,59	0,20	vermillon	A _g (présumé : hydroxylupanine)
témoins						
		1	1	1	violet	l-spartéine
		0,62	0,84	0,31	vermillon	d-lupanine
		0,80	1 +	1 +	orangé	sarothamnine
		0,95	1	1	orangé	génistéine

(+) en milieu alcalin, spot suivi d'une longue traînée.

s'agir de l'hydroxylupanine, déjà caractérisée dans les graines du genêt à balai [48].

Enfin, nous n'avons jamais retrouvé les deux alcaloïdes secondaires découverts par VALEUR, dont nous possédions des échantillons témoins.

Le tableau IV résume cette étude des alcaloïdes du *Sarothamnus scoparius* K.

Ce tableau montre nettement la nécessité d'opérer à divers pH. En effet, l'alcaloïde A_t, de même que la sarothamnine et la génistéine, ne donnent un spot différent de celui de la spartéine qu'à pH 1,5. Au contraire, dans ces conditions, la substance A_g n'est pas visible.

Signalons aussi que, dans des électrolytes de pH faiblement alcalin et, en particulier, à pH 8,6 on voit apparaître au cours de l'électrophorèse d'extraits de tiges, fleurs ou gousses, une tache noire diffuse, près de la ligne de départ et du côté de la cathode. Ce phénomène pourrait être dû à l'oxydation d'amines phénoliques en pigments de type mélanique.

— Étude quantitative :

Afin de préciser les résultats ainsi obtenus, nous avons dosé les alcaloïdes connus dans les différents organes de la plante :

	spartéine (l-spartéine base en grammes ‰ de plante sèche)	lupanine (dl-lupanine base en grammes ‰ de plante sèche)
Racine	0	0
Tige	De 2,8 à 9,7	0
Feuille	0,7	0
Fleur	1,3	0
Gousse verte	1,2	0
Gousse mûre	0	0
Graine verte	0,6	7,1
Graine mûre	0 à traces	3,6

Pour les alcaloïdes secondaires et non identifiés : A_t et A_s , nous avons établi leur pourcentage par rapport à l'alcaloïde principal en les exprimant en lupanine, la couleur de leur spot étant comparable à celle donnée par ce dernier alcaloïde.

Ainsi nous avons trouvé que A_t représentait environ 10 % de la spartéine dans la tige d'hiver de *Sarothamnus scoparius* K., organe pour lequel la teneur en spartéine est la plus élevée. Bien que nous n'ayons pas fait de recherches quantitatives à ce sujet, l'examen des bandes d'électrophorèse permet de penser que la proportion des deux alcaloïdes varie assez peu au cours de la végétation.

Nous verrons plus loin, au cours de l'étude de la maturation de la graine, la teneur de celle-ci en alcaloïde A_g (cf. page 71).

Conclusions :

L'organe le plus riche en spartéine est la tige ; la feuille, la fleur, et les différentes parties du fruit vert en renferment une proportion beaucoup plus faible. Enfin, les racines et les fruits mûrs n'en renferment que des traces ou pas du tout. D'une façon générale, cet alcaloïde se rencontre dans les organes chlorophylliens (la fleur pouvant être classée dans cette catégorie grâce à ses parties vertes).

La lupanine et A_g sont les alcaloïdes de la graine qui en contient une forte proportion.

Les fleurs furent autrefois largement utilisées en médecine et l'on supposait qu'elles étaient plus riches en spartéine que les tiges ; mais, les travaux de HIRT [43] puis de GUILLAUME et PROESCHEL [37] montrèrent que les extraits de fleurs mondées étaient moins riches en alcaloïdes que ceux de sommités fleuries. Bien plus, BELLAVITA [4] n'a pu extraire de spartéine en traitant 30 kg de fleurs de genêt sèches provenant d'Italie.

C — VARIATIONS AU COURS DE LA VÉGÉTATION :

— Variations de la teneur en spartéine des tiges :

Cette étude a porté sur les trois lots de plantes décrits plus haut (cf. page 64). Les échantillons ont été prélevés à différents stades de la végétation sur des plantes de la même localité et même, dans le cas du n° 2, sur une même plante. Nous avons déterminé la teneur en eau de chaque échantillon et effectué le dosage avec une prise d'essai de 2,5 mm³ d'une teinture alcoolo-acétique au 1/10 préparée à partir de 2 grammes de plante sèche. Le tableau V et la figure 11 rendent compte de ces résultats.

TABLEAU V

Variation de la teneur en spartéine des tiges de *Sarothamnus scoparius* K. au cours de la végétation.

	Date	Humi- dité %	Stade de végétation	Spar- téine base % de plan- te sèche
Lot n° 1	Février	12	Repos hivernal	9,7
	Mars	9,1	Bourgeonnement	6,7
	Juin	7,7	Fleurs	4,1
	Juin	9,5	Jeunes gousses	2,8
	Juillet	9,7	Graines mûres	4,7
	Septembre	10	Fruits passés	4,9
Lot n° 2	Décembre	10	Repos hivernal	9,4
	Juin	12	Fleurs	6,3
	Juin	9	Jeunes gousses	5,5
	Juillet	9	Graines vertes	4,7
	Juillet	9,5	Graines mûres	4,4
Lot n° 3	Janvier	8,9	Repos hivernal	8,7
	Mars	8,7	Début de végétation	6,2
	Août	7,9	Graines vertes	3,8
	Octobre	8,5	Arrêt de la végétation	7,5

Conclusions : l'examen de la figure 11 permet de tirer les conclusions suivantes :

1) La teneur en spartéine varie considérablement au cours de la végétation ; les chiffres extrêmes : 2,8 et 9,7 % sont dans le rapport de 1 à 4 environ. Ce résultat est à rapprocher de celui qu'indiquent BOURCET et DUGUÉ [9] qui ont traité une tonne de plantes en vue de l'extraction de l'alcaloïde : maximum 9,43 kg par tonne, minimum 1,125 kg par tonne.

2) Aucune différence sensible n'a été enregistrée entre les plantes des trois lots, pour une même période de végétation.

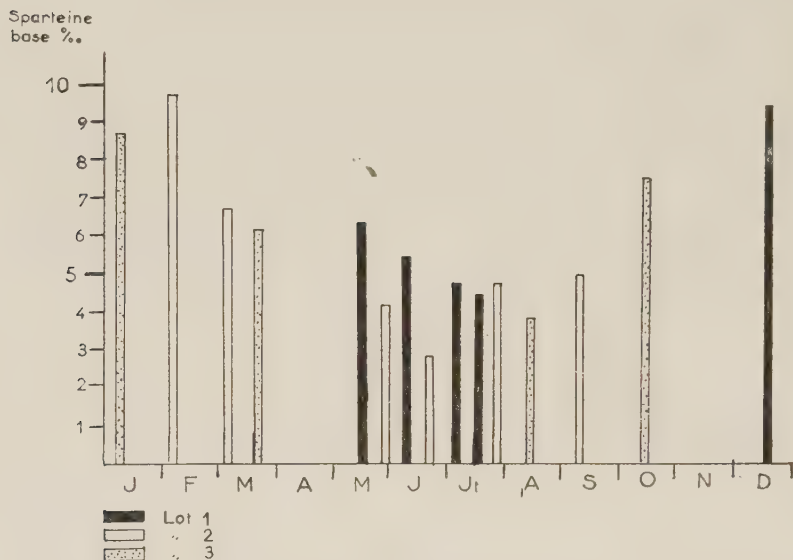


Fig. 11. — Variations de la teneur en spartéine des tiges de *Sarothamnus scoparius* K. au cours de la végétation.

3) Pendant la période hivernale, les tiges sont beaucoup plus riches en spartéine. Ce maximum n'apparaît pas nettement dans les chiffres publiés par CHEVALIER [15] qui indiquent plutôt deux maxima : en novembre et en mars ; cependant, la moyenne de ses résultats pour la saison froide est bien supérieure à celle de la saison chaude (4,64 g. contre 3,29 g. de sulfate de spartéine ‰).

BELLAVITA [4] trouve, au contraire, des résultats complètement opposés en opérant sur des genêts de l'Ombrie : deux maxima, en été et en février-avril et deux minima : à la floraison et en novembre-janvier ; les extrêmes variant de 0,81 à 0,48 g. de sulfate de spartéine ‰.

4) Le minimum de la teneur en spartéine se situe au moment de la formation de la graine ; ceci apparaît clairement dans les résultats de CHEVALIER [15], en août avec 2,33 gr. de sulfate de spartéine ‰.

5) Les valeurs que nous indiquons sont toujours supérieures à celles des auteurs cités ci-dessus ; mais il faut remarquer que leurs travaux se réfèrent à des chiffres moyens de rendement industriel portant sur une grande quantité de plante.

TABLEAU VI

Modifications de la composition du contenu alcaloïdique au cours de la formation et de la maturation du fruit, chez *Sarothamnus scoparius* K.

Echantillon	(les résultats se rapportent au poids de plante sèche)			
	Humidité (en ‰)	Spartéine (en base ‰)	Lupanine (en lupanine base ‰)	Ag (hydroxy lupanine?) ‰
<i>Plante en fleurs</i>				
Tige	12	6,3	0	0
Fleur	10,5	1,3	0	0
<i>Plante en jeunes gousses</i>				
Tige	9	5,5	0	0
Jeune gousse	10	1,0	0	0
<i>Plante en graines vertes</i>				
Tige	9	4,7	0	0
Gousse verte	9,2	1,2	0	0
Graine verte	12	0,6	7,1	0,9
<i>Plante en graines mûres</i>				
Tige	9,5	4,4	0	0
Gousse mûre	8,5	0	0	0
Graine mûre	11,5	0	3,6	0,5

Transformations du contenu alcaloïdique au cours de la formation et de la maturation du fruit :

Nous avons effectué cette étude sur des échantillons prélevés sur une même plante du lot n° 2 :

1^{er} prélèvement : le 20/6/54 plante en fleurs

2^e prélèvement : le 25/6/54 plante en jeunes gousses

3^e prélèvement : le 5/7/54 plante en graines vertes

4^e prélèvement : le 14/7/54 plante en graines mûres

Nous avons préparé, à partir de 1 gramme de plantes, un extrait alcoolo-acétique et soumis 2,5 ou 5 mm³ de celui-ci à l'électrophorèse dans les conditions décrites plus haut. Pour chaque échantillon, nous avons également déterminé la teneur en eau. Les résultats sont consignés dans le tableau VI.

Conclusions :

Le remplacement de la spartéine par la lupanine et l'alcaloïde A₂ au cours de la maturation de la graine apparaît de façon très claire sur la figure 12 qui est la photographie des spots séparés par électrophorèse à trois stades de la maturation, et des courbes d'enregistrement photométrique leur correspondant.

Ce phénomène a déjà été signalé par JAMINET [48]. Il s'agit certainement d'un processus d'oxydation, la lupanine étant véritablement une oxy-spartéine (cf. page 21). On peut d'ailleurs observer d'autres phénomènes simultanés : au stade des graines

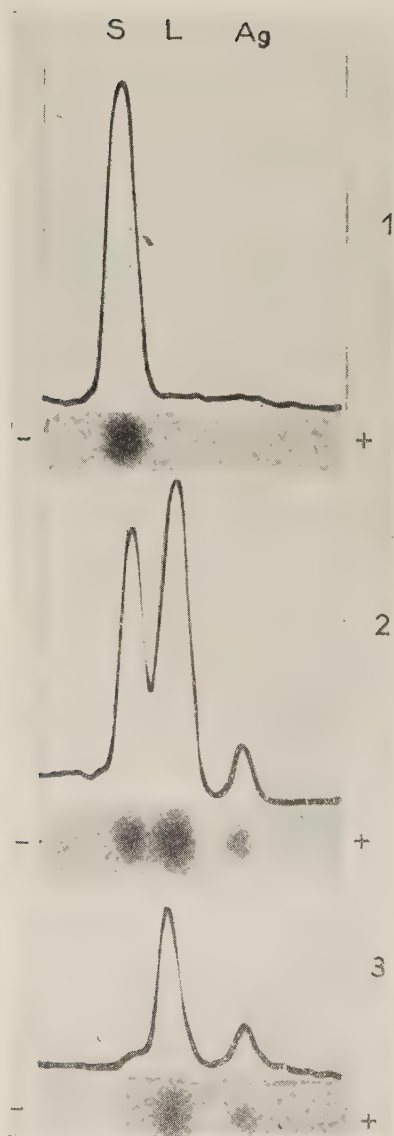


Fig. 12. — Modification de la composition du contenu alcaloïdique au cours de la formation et de la maturation du fruit de *Sarothamnus scoparius* K.

Electrophorèse : durée : 2 heures ; pH 8,6 (tampon véronal-véronal sodique) ; révélation au réactif de DRAGENDORFF.

1 : jeune gousse (totale)

S = spartéine

2 : graine verte

L = lupanine

3 : graine mûre

Ag = alcaloïde non identifié

(Photographie des électrophérogrammes de chaque extrait et des courbes d'enregistrement photométrique leur correspondant.)

vertes, la gousse se charge de pigments anthocyaniques rouges très visibles sur les échantillons que nous avons récoltés ; ces composés pourraient venir de la réduction de flavonoïdes. Plus tard, la gousse noircit par oxydation de substances phénoliques en pigments de type mélanique (c'est ce qui apparaît artificiellement au cours d'électrophorèses d'extraits de gousses en milieu alcalin (cf. page 67). Ce noircissement s'accompagne dans les fruits de la destruction totale de la spartéine.

On peut supposer, d'après les résultats de nos dosages, qu'il y a non seulement une transformation de la spartéine initiale, mais aussi une véritable synthèse d'alcaloïdes. Le jeune fruit (gousse et graine) ne renferme que 1 ‰ de spartéine ; ce chiffre ne se modifie pas dans la gousse plus développée, alors que la jeune graine qui y est contenue renferme 8,6 ‰ d'alcaloïdes totaux (0,6 ‰ de spartéine, 7,1 ‰ de lupanine et 0,9 ‰ de Ag). (Voir figure 12).

Nous verrons d'ailleurs plus loin, au cours de l'étude d'autres Génistées dont les tiges et la fleur ne contiennent pratiquement pas d'alcaloïdes, ces substances apparaître brusquement lors de la formation de la graine. Ceci semble exclure l'hypothèse d'une migration des alcaloïdes de la tige vers la graine, comme leur abaissement simultané dans la tige pourrait le laisser supposer.

Enfin, la maturation des graines achevée, la décroissance de la teneur en alcaloïdes est générale dans tous les organes de la plante examinés.

3) ETUDE DES FLAVONOÏDES :

On doit aussi à STENHOUSE [92] le premier isolement d'un dérivé flavonique du genêt à balai, appelé d'abord « scoparine » puis scoparoside lorsque sa nature hétérosidique fut démontrée par les travaux de MASCRÉ et PARIS [64].

a — Matériel d'étude et conditions d'expérience.

Pour les flavonoïdes, il est préférable d'opérer avec des plantes fraîches ou stabilisées, car ces substances s'altèrent beaucoup plus facilement que les alcaloïdes. Aussi la majorité des extraits a-t-elle été préparée par décoction des échantillons fraîchement cueillis dans l'alcool à 95° bouillant.

Dans le cas du *Sarothamnus scoparius* K., les deux techniques d'électrophorèse sur papier ou en gélose donnent des résultats semblables. Cependant les spots obtenus en gélose sont beaucoup plus nets, sans déformations ni traînées.

b — Répartition des flavonoïdes dans les divers organes de la plante.

Les résultats que nous avons obtenus montrent que les méthodes d'électrophorèse permettent de caractériser dans les fleurs, les tiges, les feuilles et les gousses, quatre flavonoïdes dont l'un a été identifié au scoparoside. Nous désignons les trois autres par F_2 , F_3 , F_4 , suivant leur position à partir de la ligne de départ. (Figure 13.)

Dans les graines, nous n'avons rencontré, en plus du scoparoside, qu'une seule substance que nous appelons F_1 . (Figure 13.)

Les flavonoïdes F_2 , F_3 , F_4 , semblent très labiles ; leurs spots n'apparaissent qu'à partir d'extraits récents de plantes fraîches. En renouvelant les expériences dans des conditions identiques avec des extraits vieillis qui donnaient initialement quatre spots on ne retrouve qu'un seul spot : celui du scoparoside. De même en préparant des extraits avec des plantes séchées depuis un an, nous n'avons mis en évidence que le scoparoside.

Afin de préciser la nature chimique des dérivés inconnus, nous avons groupé dans le tableau VII leurs principaux caractères. Il semble que les flavonoïdes accompagnant le scoparoside possèdent une structure chimique voisine de ce corps. Au contraire,

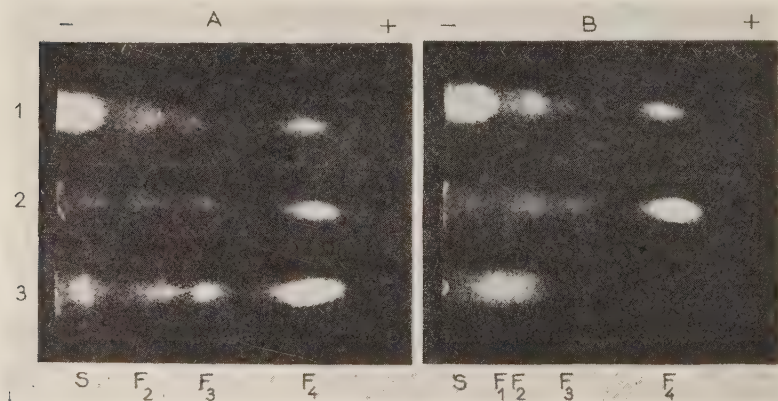


Fig. 13. — Flavonoïdes de *Sarothamnus scoparius* K.
Electrophorèse sur papier à pH 8,6 (tampon véronal-véronal sodique) ; durée : 2 heures 30.

A (plante en fleurs)

1 : extrait de tige

2 : extrait de fleur

3 : extrait de feuille

S = scoparoside ; F_1 F_2 F_3 F_4 = flavonoïdes non identifiés.

(Enregistrement photographique de contact en lumière de Wood).

B (plante en fruits (gousses vertes))

1 : extrait de tige

2 : extrait de gousse

3 : extrait de graine

TABLEAU VII

Caractères des spots des flavonoïdes mis en évidence chez *Sarothamnus scoparius* K.

	Position des spots après 2 h. 30, sur papier et à pH 8,6, celle du scoparoside étant prise pour unité :	Couleur	Couleur en lumière U.V.	Coloration par le chlorure ferrique
Scoparoside	1	jaune vif	vert-jaune	gris-vert
F ₂	3 à 3,5	id.	id.	id.
F ₃	5 env.	id.	id.	id.
F ₄	10 env.	id.	id.	id.
F ₁	2,5 à 2,8	ocre	brun	brun

le flavonoïde des graines F₁, en diffère nettement, par les réactions colorées de son spot.

Comme le montre la figure 13, qui groupe les électrophorèses sur papier obtenues avec six extraits différents représentant les divers organes du *Sarothamnus scoparius* K. à deux périodes de la végétation (floraison et gousses vertes), les proportions relatives des divers flavonoïdes sont très variables selon l'organe envisagé et le scoparoside ne domine que dans les tiges.

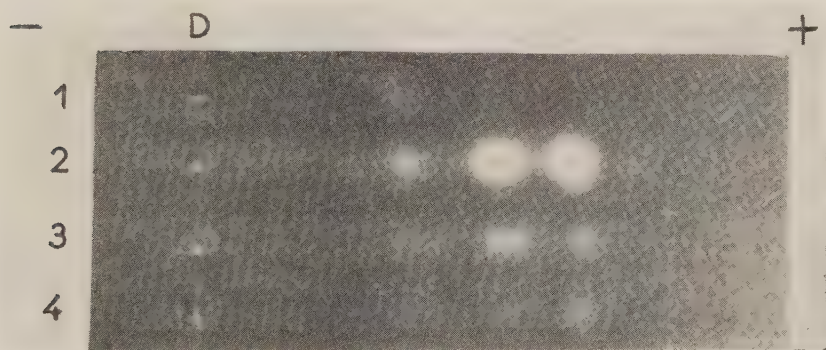


Fig. 14. — Flavonoïdes de *Sarothamnus scoparius* K.

Electrophorèse en gélose à pH = 9,7 (tampon borico-boraté) ; durée : 1 heure 30.

- 1 : témoin de scoparoside
- 2 : extrait alcoolique de fleurs fraîches
- 3 : extrait aqueux de fleurs fraîches
- 4 : extrait alcoolique de tiges fraîches
- D : ligne de départ.

(Enregistrement photographique de contact en lumière de Wood).

L'ordre de grandeur de ces variations est le suivant :

	Scoparoside	F ₁	F ₂	F ₃	F ₄
Tige	+++	0	++	+	+
Feuille	+	0	++	++	+++
Fleur	+	0	+	+	++
Gousse	++	0	+	+	+++
Graine	+	+++	0	0	0

Par des électrophorèses en gélose, nous avons pu également obtenir trois ou quatre spots avec des extraits de tige et trois spots avec des extraits de fleurs (figure 14).

Le spot le plus proche de la ligne de départ correspond également au scoparoside et sa prédominance est généralement nette dans les tiges.

Dans les fleurs, sur trois lots examinés, pour deux d'entre eux le spot le plus intense est celui du scoparoside ; au contraire, pour le dernier lot, c'est le troisième spot qui domine.

Pour un même organe les proportions des divers flavonoïdes sont donc également variables ; d'une façon générale, les dérivés flavoniques apparaissent comme des corps en constante transformation dans le végétal vivant.

4) CONCLUSIONS.

Nous avons pu mettre en évidence, chez *Sarothamnus scoparius* K., quatre alcaloïdes. Le principal est la l-spartéine qui se rencontre dans les organes chlorophylliens ; sa teneur est maximum dans les tiges en hiver, elle est minimum au moment de la formation du fruit. Un alcaloïde non identifié existe dans les tiges, à côté de la spartéine, à tous les stades de la végétation. La lupanine et un autre alcaloïde (probablement l'hydroxylupanine) apparaissent dans les graines en voie de formation ; l'étude de ce phénomène nous permet de supposer que ces alcaloïdes proviennent non seulement de l'oxydation de la spartéine, mais d'une véritable synthèse d'alcaloïdes dans la jeune graine.

Nous avons aussi mis en évidence cinq flavonoïdes dont l'un est le scoparoside. Tous les organes aériens sauf les graines renferment quatre flavonoïdes identiques, mais en proportions variables selon l'organe envisagé et le moment de la végétation. Dans les tiges le scoparoside est le plus important. Les graines, au contraire, renferment très peu de ce corps mais un autre dérivé dont les réactions semblent très différentes de celles des autres flavonoïdes de la plante.

CHAPITRE II

ÉTUDE DU GENRE *GENISTA*

Ce genre est le plus important des Génistées de notre flore et renferme une vingtaine d'espèces. Nous avons vu plus haut les caractères qui permettent de distinguer ces plantes des genres voisins, en particulier des *Cytisus*, *Sarothamnus* et *Spartium*.

Les *Genista* se subdivisent selon COSTE en espèces épineuses ou non épineuses. Le premier groupe, par sa morphologie, fait transition avec les *Ulex*; le deuxième comprend des plantes que leurs caractères rapprochent plutôt des *Sarothamnus* (ex. *Genista purgans* L.), du *Spartium* (ex. *Genista* non épineux à feuilles simples comme *Genista tinctoria* L.), ou même des *Cytisus* (*Genista* non épineux à feuilles ternées).

A. — *GENISTA* NON ÉPINEUX.

Nous étudierons tout d'abord le genêt purgatif (*Genista purgans* L.) que sa composition chimique rapproche du *Sarothamnus scoparius* K. et qui, d'ailleurs, a été parfois classé dans le genre *Sarothamnus*.

I. — *GENISTA PURGANS* L.

1) CARACTÈRES BOTANQUES :

Sous-arbrisseau de 0,30 à 0,60 m., non épineux, de couleur glauque, très rameux, à rameaux subjonciformes striés, presque nus. Feuilles simples caduques. Fleurs petites, à calice non scarieux pubescent, en forme de cloche, à lèvres divariquées; style simplement arqué. Gousse oblongue, noire et velue à maturité.

Le genêt purgatif est une espèce de la Méditerranée occidentale. On le rencontre surtout dans les régions montagneuses depuis les Îles Canaries et le Maroc jusqu'en France où il est pratiquement localisé aux Pyrénées et au Massif Central, sauf quelques stations près des cours d'eau provenant de ces montagnes ou dans les Alpes du Sud. Il forme, en général, de vastes peuplements analogues à ceux du genêt à balai et, d'ailleurs, dans le Massif Central, on voit assez souvent une lande à *Genista purgans* L. se substituer à une lande à *Sarothamnus scoparius* K. vers 1200 m. d'altitude.

Contrairement au genêt à balai, le genêt purgatif a fait l'objet de peu de recherches et sa composition chimique est encore

mal connue. Aussi nous a-t-il paru intéressant de faire pour cette espèce un travail parallèle à celui que nous avons effectué avec *Sarothamnus scoparius* K.

2) ÉTUDE DES ALCALOÏDES :

Historique : La présence de spartéine chez *Genista purgans* semble établie depuis longtemps puisque nous en trouvons mention dans la thèse de COURBIER [23], en 1914. Beaucoup plus récemment, en 1947, BERTRAND [6] étudia la variation de la teneur en spartéine au cours de la végétation par des dosages sous forme de silicotungstate.

Nous nous sommes demandé si la composition en alcaloïdes de cette espèce n'était pas, en réalité, complexe comme celle du genêt à balai, et si les variations qualitatives et quantitatives ne suivaient pas une loi analogue.

a — Matériel d'étude et conditions d'expérience :

Tous les échantillons étudiés proviennent du Massif Central, mais de régions variées, granitiques ou volcaniques, d'une altitude de 400 à 1500 m.

Nous n'avons observé aucune différence morphologique entre les plantes de basse ou de haute altitude.

La technique d'étude que nous avons suivie est identique à celle qui a été décrite pour *Sarothamnus scoparius* K.

b — Répartition des alcaloïdes dans les divers organes de la plante.

— *Etude qualitative.* :

Genista purgans L. présente, au point de vue des alcaloïdes, de grandes analogies avec *Sarothamnus scoparius* K. A l'exception de la substance A₂ (probablement l'hydroxylupanine) isolée des graines de genêt à balai, nous avons retrouvé tous les alcaloïdes de cette espèce.

Dans la tige, la gousse verte, la fleur et la graine nous avons mis en évidence la spartéine et retrouvé dans la tige la substance A₁ déjà signalée plus haut (voir figure 10 et tableau IV).

Dans la graine, la lupanine existe, à côté de la spartéine. Nous avons également trouvé des traces de lupanine dans les jeunes tiges feuillues croissant aux extrémités de la plante en fleurs. (Tableau VIII.)

Comme pour *Sarothamnus scoparius* K., on voit apparaître au cours de l'électrophorèse en milieu de pH 8,6, une tache noirâtre près de la ligne de départ et vers la cathode. Il s'agit vraisemblablement là aussi de pigments de type mélanique.

TABLEAU VIII
Alcaloïdes du *Genista purgans* L.

Organe	Position des spots après 2 h., celle de la spartéine étant prise pour unité, à pH :			Coloration	Identifié à
	1,5	8,6	12		
Racine	0	0	0	—	—
Tige 1 ^{er} spot	1	1	1	violet	spartéine
2 ^e »	0,65	1	1	orangé	A¹ (non identifié)
Jeune tige 1 ^{er} spot	1	1	1	violet	spartéine
feuillée 2 ^e »	0,62	0,84	0,31	vermillon	lupanine
Fleur	1	1	1	violet	spartéine
Gousse	1	1	1	violet	spartéine
Graine 1 ^{er} spot	1	1	1	violet	spartéine
2 ^e »	0,62	0,84	0,31	vermillon	lupanine

— *Etude quantitative* :

Nous avons dosé les alcaloïdes identifiés dans les divers organes :

	l-spartéine base % de plante sèche	dl-lupanine base % de plante sèche
Racine	0	0
Tige	de 6,4 à 8,4	0
Jeune tige feuillée	2,2	traces
Fleur	0,9	0
Gousse verte	1,5	0
Graine verte	1,00	5,5

Signalons également que la teneur des tiges en substance **A₁** semble peu différente de celle que nous avons déterminée pour *Sarothamnus scoparius* K., soit 10 % environ de la spartéine.

Quant au corps **A₂** (probablement l'hydroxylupanine), nous ne l'avons retrouvé dans aucun des échantillons examinés.

Conclusion :

L'analogie avec l'espèce précédente est grande ; le fait le plus intéressant à signaler est la *forte teneur des tiges en spartéine* ; la comparaison entre les teneurs des deux plantes au même stade de végétation donne, en effet, les résultats suivants :

	Teneur en spartéine base % <i>Genista purgans</i> L.	de tiges sèches : <i>Sarothamnus scoparius</i> K.
Plante au début de la végétation	(1) 7,6 et 8,4	(1) 6,2 à 6,7
Plante en fleurs	7,2	4,1 à 6,3
Plante en graines	6,4	2,8 à 4,9

(1) échantillons récoltés en même temps sur deux plantes voisines.

On voit que la teneur en spartéine des tiges de *Genista purgans* L. est toujours supérieure à celle des tiges de *Sarothamnus scoparius* K. d'une quantité de 15 à 100 % environ.

C — VARIATIONS DU CONTENU ALCALOÏDIQUE AU COURS DE LA VÉGÉTATION.

— Variations de la teneur en spartéine des tiges.

Cette étude a été rendue difficile par l'impossibilité de suivre les plantes d'un même lot comme nous l'avions fait pour le genêt à balai. Cependant, nous avons pu étudier quatre échantillons à des stades de développement différents, et provenant de localités très voisines par leur climat et leur sol : massif du Sancy à 1200-1400 m. et massif du Cantal à la même altitude.

Les résultats sont les suivants :

Récolte	Période de végétation	Humidité %	Spartéine base ‰ de plante sèche
Sancy mars	Fin de la période hivernale	7,4	7,6
Cantal mai	Bourgeonnement	7,9	8,4
Cantal juin	Floraison	8,0	7,2
Sancy juillet	Graines vertes	7,7	6,4

Nous retrouvons donc pour cette espèce, bien que moins marquée, la baisse de la teneur en spartéine après la floraison constatée pour *Sarothamnus scoparius* L.

— Transformations du contenu alcaloïdique au cours de la formation et de la maturation du fruit.

Comme chez le genêt à balai, on voit apparaître au cours de la formation de la graine un nouvel alcaloïde : la lupanine, dont la proportion augmente avec la maturation.

Nous n'avons pu faire une étude détaillée de ce phénomène pour *Genista purgans* L., mais nous avons cependant établi la variation des proportions relatives de lupanine et de spartéine depuis la fleur jusqu'à la graine mûre. Les différences suivantes ont été constatées :

1) Absence de l'alcaloïde A_g chez *Genista purgans* L.

2) Quantité de spartéine plus élevée chez cette même espèce et présence d'une certaine proportion de spartéine dans les graines mûres.

Voici les valeurs relatives des deux alcaloïdes, en pourcentage des alcaloïdes totaux :

	spartéine		lupanine	
	<i>Genista purgans</i> L.	<i>Sarothamnus scoparius</i> K.	<i>Genista purgans</i> L.	<i>Sarothamnus scoparius</i> K.
Fleur	100	100	0	0
Graine verte	27	8	73	92
Graine mûre	16	0	84	100

3) ÉTUDE DES FLAVONOÏDES :

Historique :

Les auteurs qui ont étudié cette espèce [50] [23] concluent à la présence de « scoparine » dans le genêt purgatif. BERTRAND [6] a même pu isoler de cette plante une très petite quantité d'un produit pur présentant les caractères du scoparoside de MASCRÉ et PARIS [64]. Mais, bien souvent, les résidus de flavonoïdes obtenus avaient des caractères très différents de ceux du scoparoside.

a — **Matériel d'étude et conditions d'expérience.**

Nous avons étudié les flavonoïdes de la tige et de la fleur de *Genista purgans* L. Les recherches ont été faites sur un lot de plantes provenant du Massif du Cantal (récolte de mai) avec lequel nous avons préparé un extrait et effectué l'électrophorèse dans les conditions décrites pour l'espèce précédente. La technique en gélose a donné les meilleurs résultats.

b — **Résultats.**

Le genêt purgatif que nous avons étudié semble pauvre en dérivés flavoniques, puisque des solutions extractives concentrées donnent des spots de faible intensité.

Cependant, l'existence d'un flavonoïde au moins est certaine dans la tige et la fleur. Les caractères de cette substance sont les suivants : couleur jaune en milieu boraté à pH 9,7 ; fluorescence brun-vert en lumière ultra-violette, coloration brune par le chlorure ferrique et position par rapport au scoparoside après une heure trente d'électrophorèse en gélose : 0,9 (fig. 15).

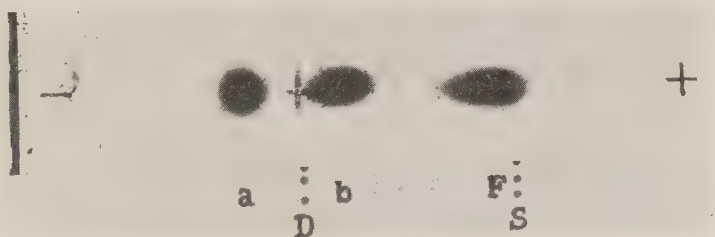


Fig. 15. — Flavonoïdes de *Genista purgans* L.

Electrophorèse en gélose : durée 1 heure 30.

D = ligne de départ

S = position du scoparoside dans les mêmes conditions

F = flavonoïde de *Genista purgans* L.

a et b : spots de fluorescence beige aux U.V. et se colorant en rouge par le chlorure ferrique.

(Enregistrement photographique de contact.)

Ces caractères ne permettent pas de conclure à son identité avec le scoparoside. Ils indiqueraient, au contraire, qu'il s'agit d'un corps différent.

Signalons également l'apparition de deux spots non colorés situés de part et d'autre de la ligne de départ et à 1 cm. environ de celle-ci ; ils apparaissent avec une fluorescence beige aux U.V. et se colorent fortement en rouge par le chlorure ferrique ; il s'agit probablement de substances phénoliques propres à *Genista purgans* L., mais nous ne pouvons affirmer leur appartenance au groupe des flavonoïdes (fig. 15).

Remarquons que JOLIVET [50] signale la coloration rouge en présence de chlorure ferrique de sa « scoparine ».

4) CONCLUSIONS :

En ce qui concerne les alcaloïdes, l'étude du *Genista purgans* L. montre une grande analogie avec *Sarothamnus scoparius* K. Les compositions qualitatives et même quantitatives sont semblables. En revanche, nous ne pouvons affirmer la présence de scoparoside et, nous n'avons pas retrouvé les autres dérivés flavoniques mis en évidence chez le genêt à balai. Mais il faut remarquer que nous n'avons pu opérer sur des plantes fraîches, ce qui a certainement une importance pour la dernière partie de ce travail.

II. — GENISTA TINCTORIA L.

1) CARACTÈRES BOTANIQUES :

Cette espèce, avant d'être classée parmi les *Genista* fut d'abord appelée *Genistella tinctoria* par MOENCH et *Spartium tinctorium* par TOURNEFORT. Ces auteurs se basaient sur des caractères morphologiques et non sur les caractères floraux qui font autorité aujourd'hui ; comme *Genistella*, le genêt des teinturiers se trouvait rapproché du genêt ailé (*Genistella racemosa* Moench, = *Genista sagittalis* L.), et, comme *Spartium*, du *Spartium funceum* L. Or, nous verrons que l'étude chimique révèle des analogies entre ces trois espèces.

Le genêt des teinturiers est un arbrisseau de 0,30 à 1 m. non épineux, vert, glabre ou pubescent, à rameaux cylindriques, tous feuillés ; feuilles simples lancéolées ou ovales, à stipules en alène ; les fleurs sont solitaires ou en grappes terminales feuillées, le calice est glabre ou pubescent, à lèvres presque égales et de la même longueur que le tube ; l'étendard est glabre, égalant la carène, les ailes et la carène sont déjetées et pendantes à la fin ; la gousse, longue de 25 à 30 mm. sur 4 mm. de large, est linéaire, un peu arquée, non bosselée, glabre ou rarement pubescente ; elle renferme 5 à 12 graines mates, olivâtres.

C'est une plante polymorphe peu exigeante, dont l'aire de répartition est très grande puisqu'elle atteint l'Asie occidentale et couvre presque toute l'Europe, à l'exception de la région méditerranéenne.

Cette espèce commune dans notre flore nous servira d'exemple pour l'étude des Génistées à cytisine. Chez un spécimen de plante croissant dans la région parisienne, il nous a été possible de mettre en évidence et de doser les différents alcaloïdes dans les divers organes de la plante, au même moment. Le genêt des teinturiers étale, en effet, sa floraison sur une longue période. A la fin de l'été (septembre) on peut cueillir sur un même pied des fleurs et des graines à divers états de maturité.

2) ÉTUDE DES ALCALOÏDES :

Historique : On connaît aujourd'hui trois alcaloïdes chez le genêt des teinturiers : les travaux de NORKINA, NARKUSIEV et OREKHOV [69] ont permis d'identifier la cytisine, la méthyl-cytisine et l'anagyryne. WHITE [102] a montré la prédominance de la cytisine dans les sommités de cette plante.

a — Matériel d'étude et conditions d'expérience :

Nous avons récolté *sur la même plante et en même temps* un échantillon de tous les organes aériens : tiges, feuilles, fleurs, gousses vertes, graines vertes, gousses mûres et graines mûres.

Des extraits ont été préparés dans les conditions décrites plus haut pour le genêt à balai (cf. page 64). Ces extraits ont été soumis à l'électrophorèse dans les trois solutions de pH différents, avec des échantillons témoins de sulfate de spartéine, nitrate de cytisine, et perchlorate d'anagyryne. Ensuite, à l'aide des bandes obtenues dans la solution de pH 1,5, nous avons pu doser cytisine et anagyryne dans les divers organes.

b — Répartition des alcaloïdes dans les divers organes de la plante :

— Etude qualitative :

Les résultats de la première série d'expériences sont consignés dans le tableau IX et la figure 16.

Nous avons pu mettre en évidence, chez *Genista tinctoria* L., quatre alcaloïdes ; à l'exception des fleurs où nous n'avons trouvé aucun alcaloïde, l'anagyryne se rencontre dans tous les organes ; au contraire, la cytisine n'existe en quantité relativement importante que dans les fruits : la couleur de son spot et surtout son déplacement vers l'anode à pH 12 rendent son identification très facile.

Nous n'avons pu identifier les deux derniers alcaloïdes que

TABLEAU IX
Alcaloïdes du *Genista tinctoria* L.

Organe		Position des spots, après 2 h., celle de la spartéine étant prise pour unité, à pH :			Coloration	Identifié à
		1,5	8,6	12		
Tige	1 ^{er} spot	0,59	0,43	0,29	grenat	anagyridine
	2 ^e »	0,36	0,20	—	orangé	A ₁ (non identifié)
Feuille	1 ^{er} spot	0,67	0,45	—0,10 (1)	rouge vif	cytidine
	2 ^e »	0,59	0,43	0,29	grenat	anagyridine
	3 ^e »	0,36	0,20	—	orangé	A ₁ (non identifié)
Fleur		0	0	0	—	—
Gousse	1 ^{er} spot	0,67	0,45	—0,10 (1)	rouge vif	cytidine
	2 ^e »	0,59	0,43	0,29	grenat	anagyridine
	3 ^e »	0,36	0,20	—	orangé	(A ₁ non identifié)
Graine	1 ^{er} spot	0,67	0,45	—0,10 (1)	rouge vif	cytidine
	2 ^e »	0,59	0,43	0,29	grenat	anagyridine
	3 ^e »	—	0,22	—	rouge	A ₂ (non identifié)
		Témoins				
		0,67	0,45	—0,10 (1)	rouge vif	cytidine
		0,60	0,42	0,32	grenat	anagyridine

(1) à pH 12, la cytidine se dirige vers l'anode.

nous désignons par A₁ et A₂, mais l'un d'eux est vraisemblablement la méthyl-cytidine déjà isolée de plusieurs autres plantes à cytidine. Nous verrons que ces alcaloïdes se retrouvent chez d'autres Génistées.

Il est remarquable de constater le balancement existant entre les proportions relatives de A₁ et de cytidine : les organes riches en cytidine sont pauvres en A₁ et vice-versa. La figure 16 montre clairement ce phénomène.

— *Etude quantitative* :

Nous avons pu doser les alcaloïdes dans les différents organes ; les résultats sont les suivants :

	Humidité %	Cytidine base ‰ de plante sèche	Anagyridine base ‰ de plante sèche
Tige	9,5	0	1,4
Feuille	9	traces	1,1
Fleur	—	0	0
Gousse verte	11	3,0	1,5
Graine verte	10	7,6	4,4
Graine mûre	8,7	7,5	3,7

Comme nous l'avons déjà signalé, nous n'avons pas trouvé d'alcaloïdes dans les fleurs ; mais il faut remarquer que nous

avons étudié ces organes chez une plante où ils étaient peu nombreux, le végétal étant alors en fruits dans sa majeure partie. L'anagyrine existe en proportion importante dans tous les autres organes. La cytisine, localisée presque exclusivement dans le fruit, s'y trouve en abondance.

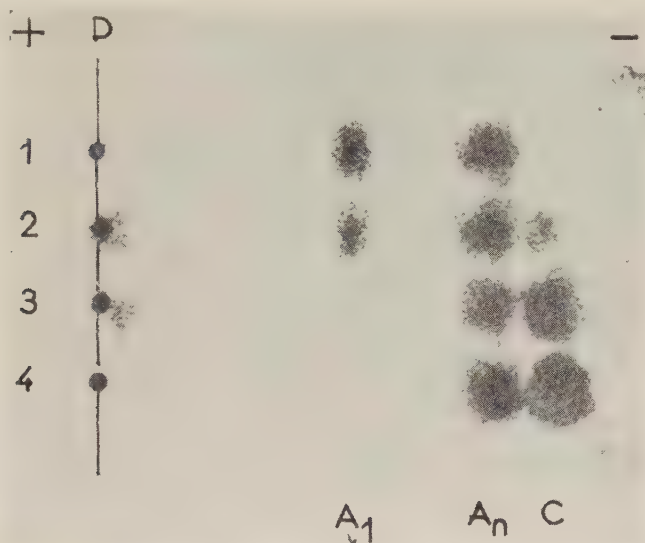


Fig. 16. — Alcaloïdes de *Genista tinctoria* L.

Electrophorèse à pH 1,5 (acide formique 2 N); durée : 2 heures ;
révélation au réactif de DRAGENDORFF ; extraits au 1/10.

1 : de tige : 20 mm³

D = ligne de départ

2 : de feuille : 10 mm³

C = cytisine

3 : de gousse verte : 5 mm³

A_n = anagyrine

4 : de graine verte : 2,5 mm³

A₁ = alcaloïde non identifié

(Enregistrement photographique de contact.)

3) ÉTUDE DES FLAVONOÏDES :

Historique : Utilisé depuis longtemps pour ses propriétés tinctoriales, ce genêt est riche en dérivés flavoniques. Deux composés sont connus : la lutéine et la génistéine [77] ou génistoside de CHARAUX et RABATÉ [12].

a. — Matériel d'étude et conditions d'expérience :

A partir d'échantillons frais de fleurs et de tiges de la plante ayant servi à l'étude des alcaloïdes, nous avons préparé des extraits selon la technique habituelle et soumis ces extraits à l'électrophorèse en gélose pendant deux heures quinze.

b — Résultats :

Nous avons pu mettre en évidence dans la tige de *Genista tinctoria* L., quatre flavonoïdes dont les spots sont très différents par leurs caractères. Nous les appelons Ta, Tb, Tc et Td selon leur éloignement de la ligne de départ (voir tableau X). Nous avons retrouvé dans la fleur trois de ces spots : Tb, Tc, Td.

TABLEAU X

Flavonoïdes du *Genista tinctoria* L. mis en évidence par électrophorèse en gélose.

	Position (en cm.) à partir de la ligne de départ après 2 heures 15	Intensité de la coloration pro- pre (1) :	Couleur en lumière U. V.	Coloration par le chlorure ferrique
Ta	0,5	+++	Brun	Brun foncé
Tb	2,5	+	Noir	Brun clair
Tc	3,7	++	Jaune foncé	Gris
Td	5,3	+	Brun	Gris-vert

(1) Tous les spots sont jaune vif à pH 9,7.

La figure 17 montre la position de ces spots après deux heures quinze d'expérience. La comparaison avec un témoin de génistéol n'a pas permis d'identifier le spot de ce dérivé, incolore en lumière ordinaire, puisqu'il s'agit d'une isoflavone.

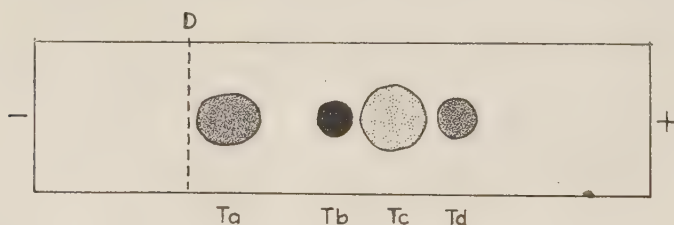


Fig. 17. — Flavonoïdes de *Genista tinctoria* L. Electrophorèse en gélose ; durée 2 h. 15.

4) CONCLUSIONS :

Nous avons mis en évidence, chez *Genista tinctoria* L., quatre alcaloïdes dont deux ont été identifiés à la cytisine et à l'anagryrine. L'anagryrine se trouve dans tous les organes sauf les fleurs et la cytisine est abondante dans les graines.

Nous avons également séparé quatre spots de flavonoïdes dans la tige et trois dans la fleur. Aucun ne correspond au génistéol.

III. — *GENISTA SAGITTALIS* L.

Comme nous l'avons dit cette espèce a été rapprochée à la fois du *Genista tinctoria* L. et du *Spartium junceum* L. sous le nom générique de *Genistella*. Aussi nous a-t-il paru intéressant de soumettre à l'électrophorèse un extrait de tiges de cette plante, dont nous avons récolté un échantillon en mars dans le massif du Sancy à 1200 m. d'altitude.

Cet essai nous a permis de constater que la tige du genêt ailé renfermait deux alcaloïdes dont l'un a pu être identifié à l'anagyrene. Le deuxième semble identique à l'alcaloïde A₁ du *Genista tinctoria* L.. Cependant, la concentration de ces substances est beaucoup plus faible dans l'échantillon de *Genista sagittalis* L. puisque nous avons dû travailler avec une prise d'essai de 40 mm³ pour avoir un spot semblable en intensité à celui obtenu avec 5 mm³ d'extrait de *Genista tinctoria* L. à la même dilution ; ce genêt serait donc environ huit fois moins riche en alcaloïdes.

Nous verrons plus loin que ces mêmes alcaloïdes se retrouvent aussi dans la tige du *Spartium junceum* L.

Ainsi, l'affinité botanique de ces trois espèces est en accord avec leur composition chimique.

Récemment, WHITE [102] a isolé trois alcaloïdes des sommets de *Genista sagittalis* L., cytisine, anagyrene et méthyl-cytisine, ce dernier corps représentant environ la moitié des alcaloïdes totaux.

B. — *GENISTA* ÉPINEUX :

Les espèces épineuses du genre *Genista* constituent un groupe à part dont la morphologie fait transition vers les *Ulex*.

Tous les degrés sont représentés : depuis les *Genista horrida* D. C. et *Genista scorpius* Lamk., aux noms évocateurs, jusqu'au *Genista Villarsii* Clementi qui est d'ailleurs considéré comme une simple variété épineuse de l'espèce *Genista pilosa* L.

Il faut remarquer tout d'abord que la présence d'épines n'est qu'un caractère facultatif, une sorte de réaction de souffrance de la plante, obligée de vivre dans des conditions défavorables. Les expériences de LOTHÉLIER [58] sur l'*Ulex europaeus* L. et divers *Genista* épineux, ont montré que ces plantes, croissant en atmosphère saturée d'humidité, prenaient la morphologie des espèces non épineuses, à feuilles simples ou ternées. D'ailleurs, les organes jeunes sont souvent inermes et feuillus, alors que les parties anciennes deviennent spinescentes ; c'est le cas, par exemple, de certains genêts dont les rameaux florifères sont inermes : *Genista germanica* L., *Genista anglica* L. et *Genista hispanica* L.

Nous remarquerons également que l'aire de répartition des

espèces épineuses est généralement plus restreinte que celle des espèces inermes, et nous avons vu qu'il en était de même pour les *Ulex* si on les compare aux *Genista* non épineux.

Au point de vue chimique, les genêts épineux ont la réputation d'être pauvres en alcaloïdes. COURBIER [23] a cherché à préciser ce point en évaluant par acidimétrie la quantité de substances basiques qu'il était possible d'extraire des tiges de diverses espèces. Il a été amené à conclure que *Genista scorpius* Lmk. ne renfermait aucun alcaloïde et que *Genista germanica* L. était pauvre en substances basiques.

Il nous a semblé intéressant de préparer un extrait de *Genista hispanica* L. et de le soumettre à l'électrophorèse dans les conditions habituelles de nos expériences. Mais, même avec de très importantes prises d'essai, nous n'avons pu mettre en évidence aucun alcaloïde dans les rameaux d'automne de cette plante.

Nous verrons également plus loin que les rameaux des *Ulex* ne renferment pratiquement pas d'alcaloïdes. Tous ces faits nous inclinent à penser que, d'une façon générale, la dégradation de certains organes de la plante en épines, c'est-à-dire une réaction à des conditions écologiques défavorables, entraîne effectivement un abaissement de la teneur en alcaloïdes (1).

(1) Chez *Calycotome spinosa* L., nous avons pu cependant mettre en évidence un alcaloïde dans les tiges ; mais le genre *Calycotome* est assez éloigné des plantes dont nous parlons.

CHAPITRE III

ÉTUDE DU GENRE *SPARTIUM*

SPARTIUM JUNCEUM L.

Si le « genêt d'Espagne » se rapproche des *Genista* non épineux à feuilles simples, ses caractères floraux suffisamment distincts (calice unilabié à 5 dents, étendard dressé, carène formée de deux pétales non soudés) ont conduit la quasi totalité des auteurs à le ranger dans le genre *Spartium*, dont il est d'ailleurs le seul représentant actuel sous le nom de *Spartium junceum* L. qui rappelle l'aspect très particulier de ses rameaux.

1) CARACTÈRES BOTANIQUES :

Arbrisseau de 1 à 3 m., non épineux, dressé, à rameaux cylindriques junciformes, très glabres et peu feuillés ; feuilles simples, oblongues lancéolées, entières ; fleurs grandes, odorantes, en grappes terminales ; *calice scarieux, glabre, fendu jusqu'à la base en une seule lèvre coupée obliquement* et terminée par 5 petites dents ; étendard dressé, carène en bec acuminé ; style courbé ; gousse de 6-8 cm. sur 7 mm. linéaire, presque glabre, noire à maturité, à 12-18 graines non caronculées.

Spartium junceum L. est une espèce typiquement méditerranéenne qu'on rencontre depuis les Iles Canaries jusqu'au Moyen-Orient. En France, ce genêt dit « d'Espagne » est commun sur les coteaux du Midi, mais on le voit également croître assez loin de la Méditerranée jusqu'au Poitou et au Dauphiné, grâce à la sécheresse de sols calcaires qui lui conviennent particulièrement.

2) ÉTUDE DES ALCALOÏDES :

Historique : Cette plante est célèbre de longue date pour les accidents qu'elle a causés, et depuis longtemps également on sait qu'un alcaloïde est responsable de cette toxicité ; mais la nature de celui-ci a fait l'objet de nombreuses discussions, certains auteurs affirmant la présence de cytisine dans les fleurs, d'autres, au contraire, comme COURBIER [23] ne pouvant la mettre en évidence. Plus récemment WHITE [101] signale, à côté de la cytisine, la spartéine qui avait été caractérisée par d'autres auteurs plus anciens. SEOANE (C.) et RIBAS (L.) n'ont pas retrouvé

la spartéine, mais indiquent la présence d'anagyrine et de méthylcytisine [89].

a — **Matériel d'étude et conditions d'expérience :**

Les échantillons ont été récoltés sur une plante de culture croissant dans un jardin parisien, mais morphologiquement identique aux plantes sauvages que nous avons pu observer dans le Midi de la France.

A Paris, le genêt d'Espagne fleurit au début de l'été (mai-juin), mais la formation de ses fruits se prolonge jusqu'à la fin de l'été. Avec des échantillons de tiges, feuilles, fleurs, gousses et graines, des extraits ont été préparés à partir de la plante fraîche par macération dans l'alcool acétique à 2 %. Cependant, nous avons dû effectuer le dosage de la cytisine sur des fleurs sèches.

b — **Répartition des alcaloïdes dans les divers organes de la plante :**

— *Etude qualitative :*

L'examen du tableau XI montre que la cytisine est présente dans tous les organes. Mais, en plus, nous avons pu isoler deux alcaloïdes : le premier existe en petite quantité dans les tiges

TABLEAU XI
Alcaloïdes du *Spartium junceum* L.

Organe		Position des spots après 2 h., celle de la spartéine étant prise pour unité, à pH			Coloration	Identifié à
		1,5	8,6	12		
Tige	1 ^{er} spot	0,67	0,43	—0,08	rouge vif	cytisine anagyrine A ₁ (non identifié)
	2 ^e »	0,59	—	0,30	grenat	
	3 ^e »	0,35	0,21	—	orangé	
Feuille	1 ^{er} spot	0,67	0,43	—0,08	rouge vif	cytisine A ₁
	2 ^e »	0,35	0,21	—	orangé	
Fleur	1 ^{er} spot	0,67	0,43	—0,08	rouge vif	cytisine anagyrine
	2 ^e »	0,59	—	0,30	grenat	
Gousse et graine vertes		0,67	0,43	—0,08	rouge vif	cytisine
Gousse et graine mûres		0,67	0,43	—0,08	rouge vif	cytisine

et les fleurs, nous l'avons identifié à l'anagyrine ; le deuxième est identique à celui que nous avons déjà rencontré dans les organes végétatifs du *Genista tinctoria* L., aussi l'appelons-nous A₁. On le trouve également dans les mêmes organes : tiges et feuilles.

Quant à la spartéine, nous ne l'avons retrouvée dans aucun des extraits étudiés.

— *Etude quantitative* :

Les quantités d'anagyrine rencontrées dans les tiges et les fleurs sont si faibles que nous n'avons pu doser cet alcaloïde. Mais nous avons étudié la répartition quantitative de la cytosine dans les divers organes :

	Humidité % (1)	Cytosine ‰ de plante sèche
Tige	54	0,3
Fleur	12	1,4
Gousse verte	59	0,6
Gousse mûre	15	traces
Graine verte	57	1,1
Graine mûre	10	5,2

La cytosine est donc inégalement répartie dans la plante ; elle est surtout abondante dans les graines mûres, mais les fleurs en contiennent également une quantité très suffisante pour expliquer leur toxicité.

Il est remarquable de constater l'augmentation considérable de la teneur en cytosine au moment de la maturation de la graine.

3) ÉTUDE DES FLAVONOÏDES :

En ce qui concerne les flavonoïdes, cette plante paraît avoir été très peu étudiée. Aussi nous a-t-il paru intéressant de soumettre des extraits à l'électrophorèse.

a — **Matériel d'étude et conditions d'expérience** :

Nous avons prélevé des échantillons sur la plante qui a servi à l'étude des alcaloïdes. Des extraits ont été préparés selon le procédé habituel et soumis à l'électrophorèse en gélose pendant deux heures quinze au maximum.

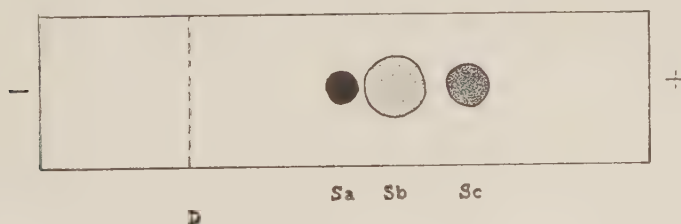


Fig. 18. — Flavonoïdes de *Spartium junceum* L. (fleur). Electrophorèse en gélose ; durée : 2 h. 15.

(1) sauf pour les fleurs, tous les dosages ont été faits à partir de plantes fraîches.

b — Résultats :

Cette méthode nous a permis de mettre en évidence dans les tiges de *Spartium junceum* L. trois flavonoïdes donnant des spots très distincts : Sa, Sb, Sc (fig. 18), dont aucun ne correspond au scoparoside.

Les caractères de ces spots sont groupés dans le tableau XII.

TABLEAU XII

Flavonoïdes de *Spartium junceum* L. mis en évidence par électrophorèse en gélose.

	Position à partir de la ligne de départ (en cm.) après 2 h. 15 :	Intensité de la coloration propre :	Couleur en lumière U. V. :	Coloration par le chlorure ferrique :
Sa	3,3	+	noir	gris
Sb	4,2	+++	jaune-vert	brun
Sc	6,0	++	brun	gris-vert

4) CONCLUSIONS :

Après cette étude, nous pouvons affirmer la présence de cytisine dans tous les organes aériens de *Spartium junceum* L., la teneur étant maxima dans les graines mûres. Mais nous n'avons pu mettre en évidence de spartéine.

Nous avons en outre caractérisé l'anagyrine et montré l'existence d'un troisième alcaloïde dans les tiges et les feuilles, ce dernier corps étant identique à celui qui existe dans les mêmes organes du *Genista tinctoria* L.. Ainsi, la composition qualitative de ces deux Génistées présente de grandes analogies.

En ce qui concerne les flavonoïdes, nous avons pu séparer trois spots qui ne se rapportent à aucun témoin.

CHAPITRE IV

ÉTUDE DU GENRE *CYTISUS*

Nous avons vu plus haut, la difficulté de séparer ce genre des *Genista* et des *Sarothamnus*. Comme COSTE [24] nous rattacherons aux *Cytisus* les espèces à étendard dressé, carène courbe et feuilles trifoliolées. Même avec cette définition assez restrictive, le nombre des espèces groupées dans le genre *Cytisus* est encore très grand, et la flore de la France en comporte une dizaine. Mais la plupart de ces plantes ne sont pas communes dans notre pays, à l'exception du cytise aubour que nous avons étudié.

CYTISUS LABURNUM L.

1) CARACTÈRES BOTANIQUES :

Cette espèce occupe dans le genre *Cytisus* une place à part, par ses fleurs en grappes pendantes et ses graines non caronculées. Ces caractères, qu'elle partage avec une autre espèce indigène : *Cytisus alpinus* Mill, l'ont parfois fait appeler : *Laburnum vulgare* Griseb.

C'est un arbuste de 3 à 6 m., à rameaux arrondis lisses ; feuilles à trois folioles ; velues, à poils appliqués en dessous ; fleurs grandes, en grappes latérales longues, pendantes ; calice en cloche, à lèvres inégales, gousse de 4-6 cm. sur 6-8 mm., stipitée, bosselée, à suture supérieure très épaissie, à 3-7 graines.

Cette plante est commune en France, surtout dans la partie orientale et en terrain calcaire ; son aire de répartition s'étend à l'Europe centrale et méditerranéenne et on la rencontre jusqu'à 2000 m. d'altitude dans les montagnes.

2) ÉTUDE DES ALCALOÏDES :

Historique : La cytisine a été signalée pour la première fois chez cette espèce par HUSEMANN et MARMÉ [45] ; elle a été retrouvée par PFLUGGE et RAUWERDA [78]. Un deuxième alcaloïde : la laburnine — qu'il ne faut pas confondre avec une dénomination erronée de la cytisine elle-même [44] — a été retiré du cytise aubour par GALINOSVKY, GOLDBERGER et POEHM [31]. Comme nous l'avons vu (cf. page 26), sa nature chimique est très différente de celle de la cytisine. Récemment, ces auteurs ont pu isoler, par chromatographie sur papier, la N-méthylcytisine [79].

a — Matériel d'étude et conditions d'expérience :

Nous avons étudié la composition des organes aériens de cette plante. Nous nous sommes adressé à des cytises sauvages croissant aux environs de Chantilly (Oise) sur un terrain calcaire. Ces arbustes y fleurissent au printemps. Nous avons récolté des échantillons de rameaux verts, feuilles, fleurs, gousses et graines.

Des extraits ont été préparés selon la méthode déjà utilisée pour les autres plantes et soumis à l'électrophorèse.

b — Répartition des alcaloïdes dans les divers organes de la plante :

— Etude qualitative :

Le tableau XIII indique la répartition des alcaloïdes dans la plante.

TABLEAU XIII
Alcaloïdes du *Cytisus Laburnum* L.

Organe	Position des spots après 2 h., celle de la spartéine étant prise pour unité, à pH :			Coloration	Identifié à
	1,5	8,6	12		
Rameaux verts	1 ^{er} spot	0,68	0,44	—0,08	cytisine Ac non identifié)
	2 ^e »	0,48	0,23	0,29	
Feuille	1 ^{er} spot	0,68	0,44	—0,08	cytisine Ac
	2 ^e »	0,48	0,23	0,29	
Fleurs		0,68	0,44	—0,08	cytisine
Gousses		0,68	0,43	—0,09	cytisine
Graines		0,68	0,43	—0,09	cytisine

Chez cette espèce, la présence de cytisine est constante dans tous les organes examinés ; il apparaît également, surtout avec les extraits de rameaux verts, un spot orangé qui semble spécifique du cytise : il n'a été retrouvé dans aucune des Génistées que nous avons étudiées.

— Etude quantitative :

Nous avons dosé la cytisine dans les divers organes de *Cytisus Laburnum* L., le résultat est le suivant :

	Humidité %	Cytisine base % de plante sèche
Rameaux verts	10	2,6
Feuilles	11	1,0
Fleurs	13	3,4
Graines	11,5	7,3

Tous les organes examinés sont riches en cytosine, les parties végétatives étant cependant moins riches que l'appareil reproducteur.

3) ÉTUDE DES FLAVONOÏDES :

Nous avons étudié les dérivés flavoniques des fleurs de cette espèce, qui en font l'ornement de nombreux jardins. Un caroténoïde jaune a déjà été signalé dans cet organe. Nous nous sommes demandé s'il ne serait pas accompagné de substances flavoniques, qui sont présentes dans toutes les autres Génistées examinées.

a — Matériel d'étude et conditions d'expérience :

Les fleurs récoltées pour cette étude sont du même lot que celui qui nous avaient servi à l'étude des alcaloïdes mais l'extrait a été préparé à partir d'un échantillon frais. Il a été ensuite soumis à l'électrophorèse en gélose.

b — Résultats :

Après une heure trente d'expérience on peut voir deux spots colorés en jaune vif. Leurs caractères les rapprochent des deux premiers obtenus par électrophorèse en gélose d'un extrait de fleurs fraîches de *Sarothamnus scoparius* K. : le scoparoside et le flavonoïde F₁, comme le montre le tableau XIV.

TABLEAU XIV

Flavonoïdes de *Cytisus Laburnum* L. (fleur) mis en évidence par Electrophorèse en gélose ; durée 1 h. 30.

	Position à partir de la ligne de départ (en cm.) après 1 h. 30	Intensité de la coloration propre	Couleur en lumière U. V.	Coloration par le chlorure ferrique
1	2,8	+++	jaune-vert	gris-vert
2	4	+	id.	id.

4) CONCLUSIONS :

Toutes les parties aériennes du *Cytisus Laburnum* L. renferment une grande quantité de cytosine. Un deuxième alcaloïde apparaît dans les extraits de tiges et feuilles.

Dans les fleurs, nous avons pu mettre en évidence deux dérivés flavoniques qui semblent identiques à deux substances des fleurs de *Sarothamnus scoparius* K., l'un correspondant au scoparoside.

CHAPITRE V

ÉTUDE DU GENRE *ULEX*

CARACTÈRES BOTANIQUES :

Les *Ulex* se distinguent des autres Génistées par leur calice persistant, jaunâtre, velu, formé de deux lèvres distinctes jusqu'à la base, leur corolle dépassant peu le calice, leur gousse courte presque incluse et leurs rameaux épineux.

Ce sont surtout des plantes de l'Europe ou de l'Afrique du Nord atlantiques : elles ne dépassent pas vers l'Est la Toscane ou l'Allemagne occidentale.

En France, on trouve deux espèces principales : l'*Ulex europaeus* L. ou ajonc commun, très abondant sur les terrains siliceux de la moitié ouest de notre pays et l'*Ulex nanus* Forst. ou ajonc nain, plus localisé que l'espèce précédente. On rencontre aussi, mais beaucoup plus rarement, *Ulex parviflorus* Pourr. qui est une plante de la Méditerranée occidentale.

Nous avons étudié les deux ajoncs les plus communs qui peuvent se distinguer par les caractères suivants, d'après COSTE :

— Fleurs grandes, de 15 mm. ; bractéoles largement ovales, plus larges que le pédicelle ; ailes dépassant un peu la carène droite ; gousse large de 6-7 mm., plus longue que le calice velu. Arbrisseau de 0,40 à 1 m., à fortes épines : *Ulex europaeus* L.

— Fleurs petites, de 7-8 mm. ; bractéoles lancéolées, plus étroites que le pédicelle ; ailes plus courtes que la carène courbée ; gousse large de 4 mm., plus courte que le calice glabrescent. Sous-arbrisseau de 0,20-0,70 m., très finement épineux : *Ulex nanus* Forst.

I. — *ULEX EUROPAEUS* L.

1) ÉTUDE DES ALCALOÏDES :

Historique : L'existence d'une substance très toxique dans les graines de l'ajonc commun est connue depuis longtemps et celles-ci ont même été utilisées dans un but criminel [66]. On sait aussi que les plantes en fruit ne peuvent être consommées par le bétail.

En 1886, GERRARD [33] isola un alcaloïde qu'il nomma ulexine, mais ce nom fut abandonné à la suite du travail de PARTHEIL [75]

qui démontra l'identité de l'ulexine à la cytosine. Plus tard, WHITE [101] retrouva cet alcaloïde. La présence d'anagyrine fut reconnue en 1935 par CLEMO et RAPER [20]. Récemment, RIBAS et BASANTA [82] montrèrent que les rameaux et les fleurs étaient très pauvres en alcaloïdes, alors que les graines renfermaient une assez importante quantité de cytosine.

Aussi, cette particularité de la répartition des bases dans la plante a-t-elle retenu notre attention, et il nous a paru intéressant de saisir le moment où la synthèse de la cytosine est réalisée.

a — Matériel d'étude et conditions d'expérience :

A l'exception d'un lot de fleurs provenant de Bretagne, tous les échantillons étudiés ont été récoltés aux environs de Seilhac (Corrèze) où l'ajonc croît en abondance sur des terrains schisteux. La floraison et la fructification ont lieu toute l'année, mais les fleurs sont plus abondantes au début du printemps (février-mars) ; les gousses qui leur font suite arrivent à maturité à la fin de mai. C'est sur une même plante suivant ce cycle de végétation que nous avons étudié la formation du jeune fruit en prélevant les échantillons suivants :

- | | |
|-------|--|
| mars | 1 — fleurs |
| | 2 — fleurs fanées avec petites gousses de 3 mm. env. |
| avril | 3 — jeunes gousses de 6 mm. environ |
| | 4 — gousses vertes de 10 mm. environ. |
| mai | 5 — gousses rougeâtres de 13 mm. |

Nous avons également récolté un lot de fruits d'hiver (décembre), dans la même localité.

Avec ces échantillons ainsi qu'avec les tiges épineuses correspondantes, des extraits alcoolico-acétiques ont été préparés dans les conditions indiquées plus haut ; mais pour les fleurs et les tiges, la concentration des extraits a été fortement augmentée (au 1/2 ou au 1/4 au lieu de 1/10). De plus, nous avons également utilisé des prises d'essai bien supérieures à celles que nous employons habituellement (10, 20, 30 et même 40 mm³ au lieu de 2,5 ou 5 mm³). De cette façon, il nous a été possible de mettre en évidence les alcaloïdes des fleurs dont la teneur est extrêmement faible.

b — Répartition des alcaloïdes dans les divers organes de la plante :

— Etude qualitative :

Le tableau XV et la figure 19 montrent les résultats obtenus pour cette espèce. Le réactif de DRAGENDORFF permet de révéler, dans l'appareil reproducteur, quatre spots de colorations très différentes. Nous avons pu identifier trois d'entre eux : un spot

rouge vif qui correspond à la cytisine, un spot grenat qui est celui de l'anagyrine et un spot rose-violet qui est identique à celui de la choline. Dans les conditions habituelles de nos expériences, ce dernier n'apparaît que sur la bande imbibée d'électrolyte à pH 1,5, car, à pH 8,6 et 12 sa vitesse de déplacement est très grande et il a déjà dépassé les limites du papier après deux heures de passage du courant. Aussi, afin de préciser sa nature, nous avons

TABLEAU XV
Alcaloïdes de l'*Ulex europaeus* L.

Organe	Position des spots après 2 h., celle de la spartéine étant prise pour unité, à pH :			Coloration	Identifié à
	1,5	8,6	12		
Tige épineuse	0	0	0	—	—
Fleur et 1 ^{er} spot	0,67	0,45	—0,06	rouge vif	cytisine anagyrine choline
gousse 2 ^e »	0,59	0,44	0,32	grenat	
3 ^e »	0,94	2,2(1)	1,8(1)	violet-rose	

(1) après une heure de passage du courant.

dû opérer dans des conditions particulières en arrêtant l'électrophorèse après une heure. Le quatrième spot, très faiblement coloré en ocre, se montre avec tous les extraits examinés, mais il correspond à une substance qui ne se déplace pas sous l'influence du champ électrique.

Dans les tiges épineuses, nous n'avons pu mettre en évidence aucun alcaloïde, même avec des extraits très concentrés. Par des méthodes extractives habituelles, MONNIER [66] avait obtenu, à partir de trois kilogrammes de tiges d'ajonc, un résidu de 0,048 gramme, très impur, donnant les réactions des alcaloïdes. Donc, si ceux-ci existent dans l'appareil végétatif de cette plante, c'est à l'état de traces.

Dans les fleurs et les fruits, nous avons pu caractériser cytisine et anagyrine qui ont déjà été isolés des mêmes organes de cette espèce. Quant à la choline, elle est surtout abondante dans le très jeune fruit, mais on la rencontre aussi dans la fleur et le fruit formé.

— Etude quantitative :

Modifications de la composition du contenu alcaloïdique au cours de la formation du fruit :

Pour cette étude, nous avons dosé les différents alcaloïdes des cinq extraits décrits plus haut. Les résultats sont consignés

dans le tableau XVI. On remarquera que la quantité d'alcaloïdes totaux du fruit mûr est voisine de celle donnée par MONNIER [66] qui avait pu extraire des graines d'ajonc 2,55 g. ‰ d'alcaloïdes totaux (en cytisine).

Au cours de la formation du fruit d'*Ulex europaeus* L. il se produit de profondes modifications du contenu alcaloïdique aussi

TABLEAU XVI

Modifications de la composition du contenu alcaloïdique au cours de la formation du fruit de l'*Ulex europaeus* L.

Echantillon	Dilution de l'extrait par rapport à la substance sèche	Alcaloïdes bases ‰ de substance sèche			Rapport Ana/cyt.
		anagyrine	cytisine	choline	
1. Fleurs	1/2	traces	traces	traces	—
2. Fleurs fanées	1/4	0,25	0,10	traces	2,5
3. Gousses de 6 mm.	1/10	0,30	0,15	2,60	2,0
4. Gousses de 10 mm.	1/10	1,80	0,75	0,95	2,4
5. Gousses de 13 mm.	1/10	0,65	2,00	traces	0,3

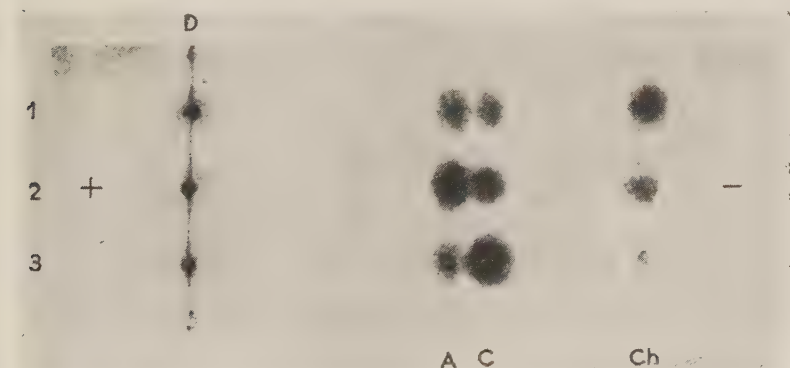


Fig. 19. — Modifications de la composition du contenu alcaloïdique du fruit d'*Ulex europaeus* L. au cours de sa formation.

Electrophorèse : pH 1,5 (acide formique 2 N) ; durée : 1 heure 3/4 ; révélation au réactif de DRAGENDORFF ; prises d'essai identiques d'une teinture au 1/10 de :

1 : fruit de 6 mm. de long env.

2 : fruit de 10 mm. de long env.

3 : fruit de 13 mm. de long env.

D = ligne de départ

A = anagyrine

C = cytisine

Ch = choline.

(Enregistrement photographique de contact.)

bien quantitatives que qualitatives. La fleur est très pauvre en alcaloïdes totaux mais on constate, dès l'apparition de la jeune gousse, une production abondante de choline qui passe par un maximum puis diminue jusqu'à disparaître presque complètement dans le fruit mûr. La synthèse d'anagyridine succède à celle de la choline et atteint aussi un maximum à un stade plus avancé du développement (gousse presque entièrement formée mais verte), pour décroître à la maturation du fruit. Enfin, la quantité de cytidine croît sans cesse au cours de la formation du fruit, et le rapport entre les deux alcaloïdes pyridocoliques s'inverse au moment de la maturation, comme s'il y avait transformation réciproque (Figure 19). Ce fait est à rapprocher de la présence d'anagyridine dans les parties végétatives de certaines plantes (*Spartium junceum* L., *Genista tinctoria* L.) dont les fruits renferment surtout de la cytidine.

2) ÉTUDE DES FLAVONOÏDES :

Historique : l'existence de dérivés flavoniques chez l'ajonc est connue depuis les travaux de BRIDEL et BÉGUIN [10] qui isolèrent l'ulexoside des fleurs de cette plante. Récemment R. PARRIS [70] a montré que les pigments jaunes de la fleur appartenaient en réalité d'une part aux flavonoïdes (ulexoside, ulexflavone) et, d'autre part au groupe des caroténoïdes.

a — Matériel d'étude et conditions d'expérience :

Cette étude a été faite à partir de fleurs d'ajonc cueillies en avril en Bretagne. Des extraits ont été préparés dans les conditions habituelles avec lesquels ont été faites d'une part des électrophorèses sur papier et d'autre part des électrophorèses en gélose. Les résultats obtenus avec cette dernière technique sont bien supérieurs : les spots sont plus nets et le fractionnement plus poussé, on arrive à la séparation de six spots de substances colorées dont cinq possèdent les caractères des dérivés flavoniques.

b — Résultats :

— *Electrophorèse sur papier* :

Dans les conditions ordinaires des expériences, cinq heures ne suffisent pas pour arriver à la séparation complète de deux spots possédant les caractères des flavonoïdes : le premier jaune vif, de fluorescence vert-jaune en lumière ultra-violette et se colorant en noirâtre par le chlorure ferrique ; le deuxième orangé, de fluorescence orangée vive et se colorant faiblement en brun par le chlorure ferrique (figure 20).

L'addition d'un mouillant à l'électrolyte — sulfate de lauryle et de sodium à 1 % — permet de parvenir, dans un temps plus

court, à un meilleur résultat : après trois heures on distingue trois spots : un spot orangé Z restant sur la ligne de départ et ne possédant pas les caractères des dérivés flavoniques ; un spot jaune foncé A situé à 1,2 cm., donnant une fluorescence brune aux U.V. et se colorant en gris vert par le chlorure ferrique ; enfin, à 2,8 cm., un spot orangé B, de fluorescence orangée et se colorant en brun clair par le chlorure ferrique (figure 20).

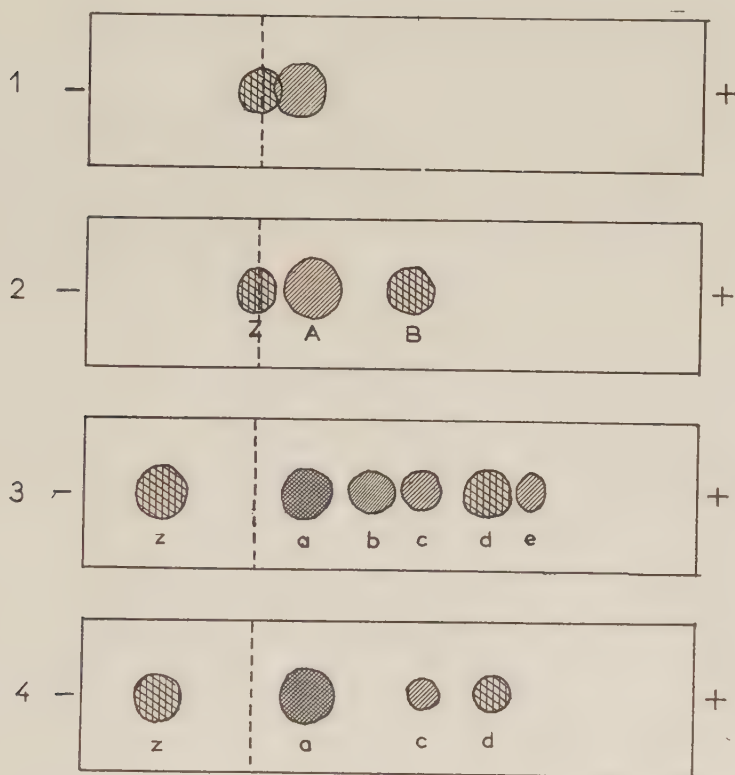


Fig. 20. — Pigments des fleurs d'*Ulex europaeus* L. et *Ulex nanus* Forst. isolés par électrophorèse.

Ulex europaeus L.

1 — Electrorhéophorèse : électrolyte : tampon véronal-véronal sodique (pH = 8,6) ; durée : 5 heures.

2 — Electrorhéophorèse : Même tampon additionné de 1 % de sulfate de lauryle et de sodium ; durée : 3 heures.

3 — Electrophorèse en gélose ; durée : 2 heures.

Ulex nanus Forst.

4 — Electrophorèse en gélose ; durée : 2 heures.

— *Electrophorèse en gélose* :

L'électrophorèse en gélose permet de séparer, comme nous l'avons déjà signalé, six spots colorés : l'un d'eux z se dirige vers la cathode, les cinq autres vers l'anode ; nous les désignerons, suivant leur éloignement de la ligne de départ, par les lettres a, b, c, d, e (figure 20). Le tableau XVII groupe leurs caractères.

TABLEAU XVII

Caractères des spots de pigments isolés de la fleur d'*Ulex europaeus* L. par électrophorèse en gélose.

	Position à partir de la ligne de départ après 1 h. 30 (en cm.)	Couleur	Intensité de la coloration propre	Couleur en lumière U.V.	Coloration par le chlorure ferrique
a	1,1	jaune-orangé	++	jaune foncé	gris
b	2,3	jaune	+++	jaune	gris-vert
c	3,3	jaune	++	vert	gris
d	4,2	orangé	+++	orangé vif	brun clair
e	5,0	jaune pâle	+	brun clair	—(1)
z	—2,0 (2)	orangé	++	orangé pâle	néant

(1) L'intensité de ce spot est trop faible : l'observation de la coloration est difficile.

(2) Se dirige vers la cathode.

Nous avons pu identifier les spots d et B à l'ulexflavone isolée par R. PARIS [70], purifiée par chromatographie, et grâce à un échantillon témoin dont les caractères sont rigoureusement identiques à ceux décrits pour les substances d et B.

Le spot c semble correspondre à celui de l'ulexoside : un échantillon de ce corps, également isolé à l'état pur par R. PARIS [70] donne un spot semblable, sauf en ce qui concerne la fluorescence qui, pour le témoin, est d'une couleur plus sombre.

Les spots a, b et e possèdent les caractères des flavonoïdes mais z paraît être d'une nature différente, identique d'ailleurs à Z isolé sur papier.

3) CONCLUSIONS :

L'étude des alcaloïdes de l'*Ulex europaeus* L. nous a permis d'identifier anagryrine et cytisine dans les organes reproducteurs de cette plante qui renferment également de la choline. Nous n'avons, au contraire, trouvé aucun alcaloïde dans les parties végétatives. Des recherches quantitatives sur les fruits à divers états de maturité ont montré que la teneur en chaque composé passait par un maximum, successivement choline, anagryrine et cytisine,

les proportions respectives suggérant des transformations réciproques.

L'électrophorèse en gélose nous a montré la grande complexité du contenu pigmentaire des fleurs : six corps peuvent être isolés, dont cinq sont des dérivés flavoniques (deux ayant été identifiés à l'uléxoside et à l'uléxflavone).

II. — *ULEX NANUS* FORST.

Il était intéressant d'étudier, comparativement à l'*Ulex europaeus* L., une espèce voisine : *Ulex nanus* Forst., sur la composition de laquelle il n'existe que peu de renseignements.

Si cette espèce ressemble à l'ajonc commun, elle s'en distingue par quelques caractères (voir page 96), notamment sa taille plus réduite et certaines particularités biologiques : fructification l'année suivant la floraison, comme l'indique BONNIER [8], répartition géographique plus restreinte qui en fait une véritable plante atlantique.

1) ÉTUDE DES ALCALOÏDES :

Historique : BONNIER signale la toxicité des graines de cet ajonc dans lequel WHITE [101] n'a pu caractériser de spartéine. RIBAS et BASANTA [83] ont extrait des graines mûres une assez grande quantité de cytosine et d'anagyrene ; les rameaux ne renferment qu'une très faible proportion de bases, dont l'anagyrene.

a — Matériel d'étude et conditions d'expérience :

Les échantillons étudiés proviennent de la même localité que ceux de l'ajonc commun (Seilhac, Corrèze) ; la plante croît en abondance dans cette région. Elle y fleurit de façon un peu irrégulière, mais surtout en été et en automne. L'échantillon en fleur a été cueilli en décembre 1954 et les graines du même lot de plantes en fin avril 1955.

b — Répartition des alcaloïdes dans les divers organes de la plante :

— Etude qualitative :

Le tableau XVIII montre, qu'en dehors du fruit, les alcaloïdes n'ont pu être mis en évidence. Nous avons caractérisé anagyrene et cytosine dans les fruits mûrs.

— Etude quantitative :

Afin de préciser les résultats, nous avons dosé les alcaloïdes dans le fruit mûr : les chiffres trouvés sont comparables à ceux

TABLEAU XVIII
Alcaloïdes de l'*Ulex nanus* Forst.

Organe	Position des spots après 2 h., celle de la spartéine étant prise pour unité, à pH :			Coloration	Identifié à
	1,5	8,6	12		
Tige épineuse	0	0	0	—	—
Fleur	0	0	0	—	—
Fruit	1 ^{er} spot	0,68	0,45	rouge vif grenat	cytisine anagyrine
	2 ^e »	0,59	—		

déterminés pour *Ulex europaeus* L., la proportion d'anagyrine étant cependant plus élevée :

	Cytisine base ‰ de plante sèche	anagyrine base ‰ de plante sèche	Rapport Anag./Cytisine
<i>Ulex europaeus</i> L.	2,0	0,65	0,3
<i>Ulex nanus</i> Forst.	1,3	1,05	0,8

2) ÉTUDE DES FLAVONOÏDES :

Par comparaison avec l'ajonc commun, nous avons étudié les pigments de la fleur d'*Ulex nanus* Forst.

a — Matériel d'étude et conditions d'expérience :

Les fleurs d'ajonc nain ont été récoltées en décembre à Seilhac (Corrèze), comme celles qui ont servi à l'étude des alcaloïdes ; avec l'extrait alcoolique nous avons effectué des électrophorèses en gélose, selon la technique exposée plus haut.

b — Résultats :

Cette technique a permis de mettre en évidence quatre spots pigmentés dont trois se dirigent vers l'anode et possèdent les carac-

TABLEAU XIX
Caractères des spots de pigments de la fleur d'*Ulex nanus* Forst.

	Position à partir de la ligne de départ après 1 h. 30 (en cm.)	Couleur	Intensité de la coloration propre	Couleur en lumière U. V.	Coloration par le chlorure ferrique
a	1	jaune	+++	jaune foncé	gris
b	3,3	jaune	+	vert	gris
d	4,6	orangé	++	orangé vif	brun clair
z	—2,4	orangé	++	orangé pâle	néant

tères des flavonoïdes, le quatrième se dirigeant vers la cathode, comme le spot z de l'*Ulex europaeus* L.

Nous avons groupé leurs caractères dans le tableau XIX.

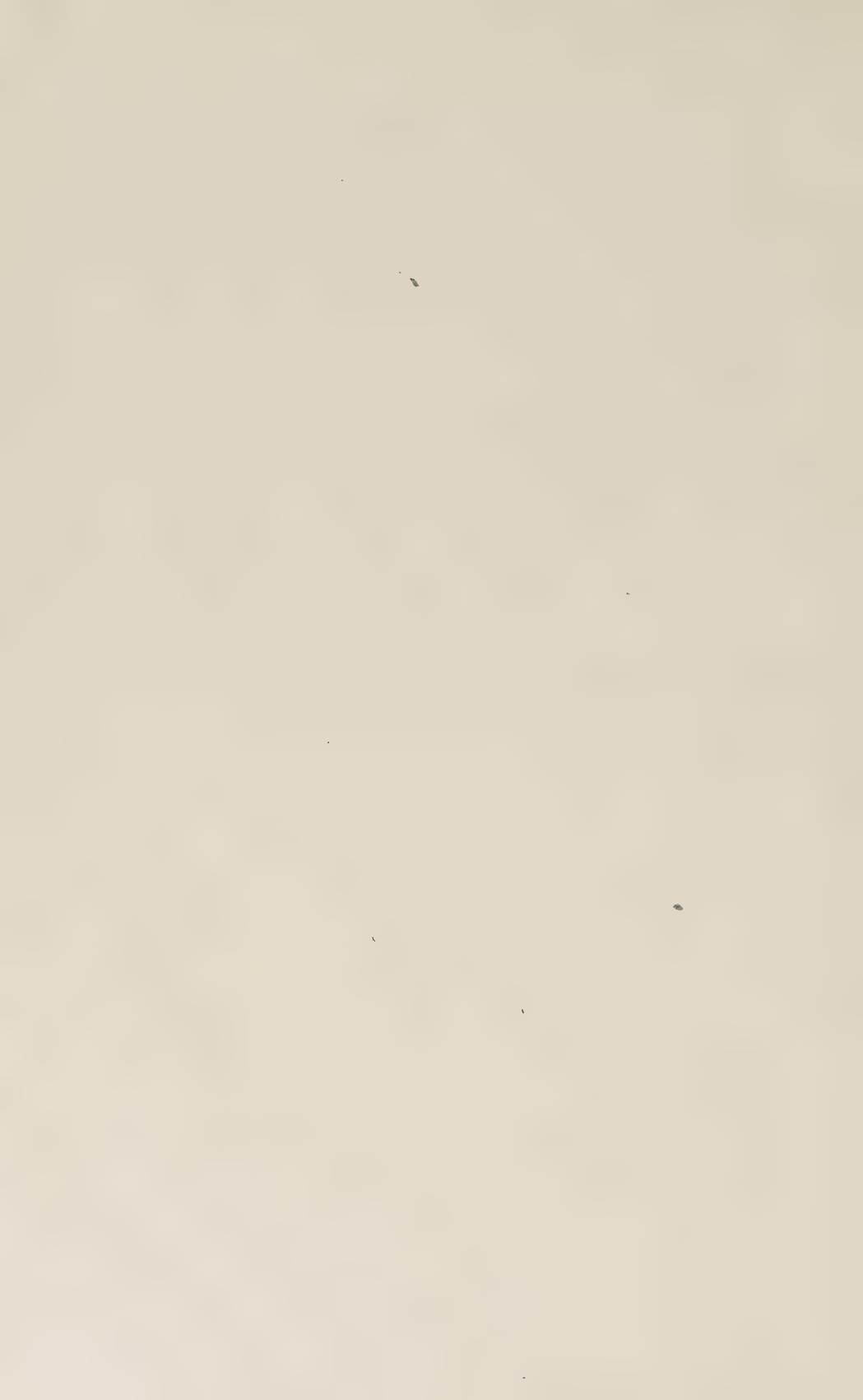
En soumettant à l'électrophorèse en même temps des extraits des deux espèces d'*Ulex*, nous avons pu identifier les spots issus de l'extrait d'*Ulex nanus* Forst. aux spots a, c, d, et z de l'*Ulex europaeus* L., La comparaison avec les substances témoins confirme l'existence d'ulexoside et ulexflavone chez *Ulex nanus* Forst.

3) CONCLUSIONS :

L'étude chimique révèle de grandes analogies entre les deux espèces d'*Ulex* étudiées : *Ulex europaeus* L. et *Ulex nanus* Forst. : en ce qui concerne les alcaloïdes : absence dans les tiges, présence d'anagyrine et de cytisine dans les fruits, le rapport des deux corps étant cependant nettement différent.

Pour les flavonoïdes : présence dans les fleurs de trois substances communes, en particulier ulexoside et ulexflavone.

Nous devons remarquer que pour *Ulex nanus*, nous avons opéré avec des extraits moins concentrés et que l'analogie des résultats serait peut-être plus grande encore si nous avions pu travailler dans des conditions rigoureusement identiques. Les spots non retrouvés chez *Ulex nanus* Forst. sont en effet ceux dont l'intensité est la plus faible.



CONCLUSIONS GÉNÉRALES

La première partie de ce travail a été consacrée au rappel, d'une part, des caractères botaniques permettant l'identification des espèces indigènes de la tribu des Génistées et, d'autre part, des propriétés chimiques et de la structure de certains de leurs constituants : alcaloïdes et flavonoïdes.

Cette mise au point fait ressortir la grande homogénéité des Génistées indigènes tant au point de vue morphologique qu'au point de vue chimique. Les alcaloïdes de ces plantes sont, pour la plupart, des dérivés du nor-lupinane. Pour les flavonoïdes, les connaissances sont encore fragmentaires et nous avons dû nous borner à rappeler les caractères des principales substances déjà isolées.

Dans la deuxième partie, sont exposées les méthodes que nous avons mises au point pour l'analyse des Génistées. En ce qui concerne les alcaloïdes, nous avons retenu, en raison de sa commodité et de sa sensibilité, l'électrophorèse sur papier avec évaporation continue du solvant ou électrorhéophorèse. L'étude des différents facteurs intervenant au cours de l'expérience, en particulier du pH de l'électrolyte, nous a conduit à élaborer une technique qualitative originale consistant à soumettre les extraits végétaux étudiés à des électrophorèses dans trois milieux de pH différents. La séparation et l'identification des spots alcaloïdiques se trouvent ainsi grandement facilitées. La révélation des spots a retenu tout particulièrement notre attention : deux procédés ont donné des résultats satisfaisants : le premier utilise, dans des conditions que nous avons précisées, le réactif classique de DRAGENDORFF à l'iodobismuthate de potassium, et le deuxième un réactif à l'iode et à l'amidon dont nous avons mis au point la formule. Ce deuxième mode de révélation, bien que moins spécifique, permet d'obtenir une coloration bleue, qualitativement identique pour tous les alcaloïdes, alors que les précipités d'iodobismuthates présentent des colorations variées. Enfin, nous avons pu reculer les limites de sensibilité de ces méthodes en faisant suivre la révélation d'un enregistrement photographique par contact.

Ensuite, une évaluation quantitative de la teneur des spots en alcaloïdes a été étudiée. Elle est basée sur la mesure photométrique des taches révélées. Pour déterminer le pourcentage des divers alcaloïdes isolés d'un extrait végétal, on comparera entre elles les surfaces d'enregistrement correspondant à la lumière ab-

sorbée au niveau des spots. Mais, dans le cas d'une révélation par le réactif de DRAGENDORFF, il sera nécessaire, à cause des différences de coloration, de se référer, pour chaque spot, aux courbes d'étalonnage établies avec des substances pures. Pour les principaux alcaloïdes du groupe du lupinane (spartéine, lupanine, anagrine et cytisine) ce sont des droites entre certaines limites de concentration ; ainsi a-t-il été possible de doser ces alcaloïdes, par comparaison avec des solutions titrées témoins soumises aux mêmes conditions d'expérience. Cette méthode, très sensible, permet d'utiliser des prises d'essai très faibles (de 2,5 à 40 mm³) d'extraits relativement peu concentrés en alcaloïdes (jusqu'à 0,10 %_{co} environ).

En ce qui concerne les flavonoïdes, composés à réaction faiblement acide, les conditions expérimentales doivent être différentes : l'électrophorèse n'est possible qu'en milieu alcalin, et la migration des particules chargées est fortement troublée par leur adsorption énergétique sur les fibres de cellulose. Cet inconvénient nous a amené à remplacer, dans la plupart des cas, la bande de papier par une lame de gélose, et à mettre ainsi au point une technique particulière d'électrophorèse en gélose. Une autre difficulté est la révélation des spots, l'obtention d'une tache fixe et suffisamment nette est difficile. Nous sommes parvenu aux meilleurs résultats par un procédé photographique basé sur l'enregistrement de l'absorption de lumière ultra-violette au niveau des spots. Des essais ont montré que ce procédé pourrait être utilisé à des fins quantitatives, mais l'étude de cette application aurait beaucoup trop élargi notre sujet et nous regrettons de n'avoir pu l'approfondir.

La troisième partie de ce travail a été consacrée à l'application des techniques proposées à l'étude, aux points de vue statique et dynamique, des alcaloïdes et des flavonoïdes des Génistées indigènes. Nous nous sommes adressé principalement aux espèces spontanées les plus communes de notre flore : *Sarothamnus scoparius* K., *Genista purgans* L., *Genista tinctoria* L., *Genista sagittalis* L., *Spartium junceum* L., *Cytisus Laburnum* L., *Ulex europaeus* L. et *Ulex nanus* Forst. Chaque fois que nous l'avons pu, nous avons examiné les divers organes d'une même plante, à différents stades de la végétation, de façon à pouvoir suivre les variations et les transformations des constituants.

Au cours de l'étude des alcaloïdes, deux points ont été surtout approfondis, ce sont :

- 1) la répartition dans les divers organes de la plante,
- 2) les transformations se produisant au cours de la formation du fruit : biosynthèse et disparition d'alcaloïdes.

Beaucoup de corps déjà isolés ont été retrouvés et leur répartition quantitative dans la plante a été précisée.

Chez *Sarothamnus scoparius* K., si nous n'avons pas révélé de spots correspondant aux alcaloïdes secondaires découverts par VALEUR : génistéine et sarothamnine, nous avons pu, en revanche, mettre en évidence une base nouvelle pour cette espèce, qui existe en assez forte proportion dans les tiges. Toujours chez le genêt à balai, nous avons pu suivre la transformation des alcaloïdes au cours de la formation du fruit, avec apparition de lupanine.

Ce même phénomène a été retrouvé chez le *Genista purgans* L., espèce peu étudiée jusqu'à présent, riche en spartéine et contenant, elle aussi, l'alcaloïde nouveau signalé dans les tiges de *Sarothamnus scoparius* K.

La spartéine n'a pas été retrouvée dans le genêt d'Espagne où cette base avait été signalée, mais l'anagyrine y a été mise en évidence. Ce dernier alcaloïde a également été trouvé par nous dans les tiges de *Genista sagittalis* L. et les graines d'*Ulex*.

L'anagyrine est donc largement répandue chez ces plantes ; il en est de même de la cytisine qui est toujours l'alcaloïde dominant dans les graines mûres.

L'étude des alcaloïdes permet donc de diviser les Génistées en deux groupes fondamentaux : plantes à alcaloïdes saturés (spartéine, lupanine, hydroxy-lupanine) et plantes à alcaloïdes insaturés (cytisine, anagyrine, méthylcytisine).

Les premières (certains lupins, *Sarothamnus scoparius* K., *Genista purgans* L.) ont pour alcaloïde principal la spartéine mais celle-ci est peu à peu remplacée dans le fruit en formation par des dérivés oxygénés : lupanine et hydroxylupanine.

Les deuxièmes comprennent : *Genista tinctoria* L., *Genista sagittalis* L., *Spartium junceum* L., *Cytisus Laburnum* L., *Ulex europaeus* L. et *Ulex nanus* Forst. Chez ces Génistées, l'étude de la maturation du fruit, en particulier pour *Ulex europaeus* L., nous a permis de penser que la formation d'anagyrine précède celle de cytisine au cours de la végétation de la plante. La répartition des alcaloïdes dans les divers organes confirme d'ailleurs cette hypothèse : à l'exception du cytise qui contient dans toutes ses parties aériennes de fortes quantités de cytisine, les organes apparaissant les premiers au cours de la végétation (tiges, feuilles) renferment de l'anagyrine, alors que les derniers formés (fleur, fruit) contiennent surtout de la cytisine. Cette base apparaît donc comme le terme ultime des transformations alcaloïdiques au cours de la végétation, elle se formerait par dégradation de l'anagyrine qui la précède toujours.

Dans les organes végétatifs aériens, l'électrophorèse

met en évidence d'autres alcaloïdes dont l'un, non identifié, est commun à trois espèces (*Genista tinctoria* L., *Genista sagittalis* L., et *Spartium junceum* L.). Enfin chez *Ulex europaeus* L. on peut constater une formation importante de choline précédant celle d'anagyrine.

Selon les espèces, les alcaloïdes apparaissent plus ou moins précocement et leurs transformations sont poussées plus ou moins loin. Il semble que les espèces présentant une morphologie troublée (réduction de l'appareil foliaire, présence d'épines etc.) ou une biologie particulière (aire de répartition localisée, floraison irrégulière ou longue durée de la formation des fruits) soient les moins aptes à réaliser la synthèse des alcaloïdes.

L'étude des flavonoïdes ne nous a pas permis de parvenir à un point de vue aussi général. Nous avons été frappé, au contraire, par le nombre et la grande diversité des corps mis en évidence. Deux espèces seulement présentent une analogie certaine de composition : *Ulex europaeus* L. et *Ulex nanus* Forst., encore s'agit-il de plantes très voisines.

La plupart des espèces renferment de trois à cinq corps différents ; dans le genêt à balai réputé pour contenir du scoparoside, l'électrophorèse met en évidence, en dehors du scoparoside, quatre flavonoïdes. Les proportions des divers dérivés sont très variables selon les organes et, pour un même organe, selon le moment de la végétation ; le scoparoside est bien loin de prédominer toujours. Contrairement à l'opinion généralement admise, il ne semble pas être répandu chez tous les genêts ; nous ne pouvons affirmer sa présence en dehors du *Sarothamnus scoparius* K., même chez le *Genista purgans* L.

Chez le genêt des teinturiers, nous avons pu obtenir quatre spots de caractères très différents, trois chez le genêt d'Espagne, deux chez le cytise et cinq chez l'ajonc commun ; deux de ceux-ci ont été respectivement identifiés à l'ulexflavone et à l'ulexoside. Nous avons également retrouvé ces deux dérivés chez l'ajonc nain (*Ulex nanus* Forst.).

Nous regrettons de n'avoir pu effectuer une étude plus poussée des flavonoïdes, ce qui aurait nécessité parallèlement l'extraction et l'isolement des substances responsables des spots mis en évidence, pour la majorité desquelles il n'existe aucun corps de référence.

Certains points restent à préciser. Notre sujet était vaste, nous n'avons pu approfondir que quelques exemples particuliers.

Nous espérons surtout que ce travail montrera les possibilités apportées par de nouvelles techniques à la biologie végétale et à l'étude du métabolisme des constituants des plantes médicinales.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

1. BATE SMITH (E.-C.). — Anthocyanins and Flavones. *Biochem. J.*, 1948, **43**, p. XLIX-L.
2. BECKEL (A.). — Ueber das Rechts-Lupanin (II). *Arch. Pharm.*, 1912, **250**, p. 691-710.
3. BEILLE (L.). — Précis de Botanique pharmaceutique. N. Maloine éd., Paris 1935, II, p. 1042.
4. BELLAVITA (V.). — La sparteina nello *Spartium scoparium* de l'Umbria. *Il Farmaco*, 1948, **3**, p. 424-427.
5. BERGH (G. Fr.). — Ueber die Alkaloide der perennierenden Lupine. *Arch. Pharm.*, 1904, **242**, p. 416-440.
6. BERTRAND (J.). — Recherches sur la composition chimique et l'action pharmacodynamique de *Genista purgans*. Variations au cours du cycle annuel de végétation. *Thèse Doct. Univ. (Pharm.)*, Lyon, 1914.
7. BLOCK (R.-J.), DURRUM (E.-L.) et ZWEIG (G.). — A Manual of Paper Chromatography and Paper Electrophoresis, Academic Press, éd., New-York, 1955.
8. BONNIER (G.). — Flore complète de la France, III, p. 118. Librairie générale de l'Enseignement éd., Paris, 1934.
9. BOURCET (P.) et DUGUÉ (G.). — Variations de la teneur en spartéine chez le genêt, *Bull. Sc. pharmacol.*, 1930, **37**, p. 49-51.
10. BRIDEL (M.) et BÉGUIN (C.). — Sur un nouveau glucoside hydrolysable par la rhamnodiastase retiré des fleurs fraîches d'*Ulex europaeus* L. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1926, **8**, p. 895-900.
11. CASSOLA (M.). — Bemerkung ueber das Lupinin. *Ann. Pharm.*, 1835, **13**, p. 308-309.
12. CHARAUX (C.) et RABATÉ (J.). — Etude des fleurs de *Genista tinctoria* L. *J. Pharm. Chim.*, 1941 [9], **1**, p. 404-407.
13. CHARAUX (C.) et RABATÉ (J.). — Sur la constitution du génistéol. *J. Pharm. Chim.*, 1935 [8], **22**, p. 32-33.
14. CHARAUX (C.) et RABATÉ (J.). — Le sophoricoside, nouvel hétéroside des fruits de *Sophora japonica* L. *J. Pharm. Chim.*, 1935 [8], **21**, p. 546-554.
15. CHEVALIER (J.). — Variations de la teneur en spartéine du genêt à balais, suivant l'époque de la végétation. *C. R. Ac. Sc.*, 1910, **150**, p. 1068-1069.
16. CLEMO (G.-R.), MORGAN (W.) et RAPER (R.). — The Lupin Alkaloids. Part XII. The Synthesis of dl-Lupinine and dl-iso-Lupinine. *J. Chem. Soc.*, 1937, p. 965-969. *Bull. Soc. Chim. Fr. (Doc.)*, 1938, p. 161.
17. CLEMO (G.-R.), MORGAN (W. Mc. G.) et RAPER (R.). — The Lupin Alkaloids. Part XIII. The resolution of dl-Lupinine. *J. Chem. Soc.*, 1938, p. 1574-1575.

18. CLEMO (G.-R.), RAMAGE (G.-R.) et RAPER (R.). — The Lupin Alkaloids. Part VI. *J. Chem. Soc.*, 1932, p. 2959-2969.
19. CLEMO (G.-R.) et RAPER (R.). — The Lupin Alkaloids. Part VII. The structure of Lupanine and Sparteine. *J. Chem. Soc.*, 1933, p. 644-645.
20. CLEMO (G.-R.) et RAPER (R.). — The Alkaloids of *Ulex europaeus*. Part I. *J. Chem. Soc.*, 1935, p. 10-11.
21. CLEMO (G.-R.), RAPER (R.) et TENNISWOOD (Ch. R. S.). — The Lupin Alkaloids. Part. III. *J. Chem. Soc.*, 1931, p. 429-438.
22. COUCH (J.-F.). — Lupine Studies. 1925, **47**, p. 2584; 1932, **54**, p. 1691; 1934, **56**, p. 2434; 1936, **58**, p. 686 et 1296; 1937, **59**, p. 1469; 1939, **61**, p. 1523; 1940, **62**, p. 554.
23. COURBIER (H.). — Les genêts et leurs alcaloïdes. *Thèse Doct. Univ. (Pharm.)*, Lyon, 1914.
24. COSTE (H.). — Flore de la France. **1**, p. 285. Librairie des sciences nat. Paris, 1901.
25. CREMER (H.) et TISELIUS (A.). — Elektrophorese von Eiweiss in Filtrierpapier. *Biochem. Z.* 1950, **320**, p. 273-283.
26. DARMON (P.) et FAUQUEMBERGUE (Mlle D.). — Une méthode optique de dosage des acides aminés après chromatographie sur papier. *Ann. pharm. fr.*, 1954, **12**, p. 766-777.
27. DELABY (R.), BARONNET (R.) et GUY (I.). — La Sarothamnine, alcaloïde fixe du genêt à balai (*Sarothamnus Scoparius*). *Bull. Soc. chim. Fr.*, (5), 1949, **16**, p. 152-154.
28. DURRUM (E.-L.). — A Microphoretic and Microionophoretic Technique. *J. am. chem. Soc.*, 1950, **72**, p. 2943-2948.
29. FIELD (G.) et TEAGUE (S.). — *J. Exp. Med.*, **9**, p. 86 et 225. in WUNDERLY : Die Papierelektrophorese (v. ref. 106).
30. FRANÇOIS (M.) et SÉGUIN (Mlle L.). — Sur la préparation d'un iodobismuthate de quinine amorphe et sur son analyse, *J. Pharm. Chim.*, 1925, **2**, p. 59-69.
31. GALINOVSKY (F.), GOLDBERGER (H.) et POEHM (M.). — Ueber das Laburnin, ein Alkaloid aus *Cytisus Laburnum*. *Monatsh. Chem.*, 1949, **80**, p. 550-554.
32. GALLOIS (N.) et HARDY (E.). — Anagyres et anagyrine. *C. R. Soc. Biol.*, 1885, p. 391.
33. GERRARD (A.-W.). — Ulexine, a new Base from *Ulex europaeus*. *Pharm. J.*, 1886, **17**, p. 101.
34. GORDON (A.), KEIL (B.) et SEBESTA (K.). — Electrophoresis of Proteins in Agar Jelly. *Nature (London)*, 1949, **164**, p. 498-499.
35. GRABAR (P.) et WILLIAMS (C.-A.). — Méthode permettant l'étude conjuguée des propriétés électrophorétiques et immuno-chimiques d'un mélange de protéines. *Biochem. Biophys. Acta*, 1953, **10**, p. 193-194.
36. GRAF (E.) et LIST (D. P. H.). — Studien zur Papierelektrophorese. Papierelektrophoretische Gehaltsbestimmung von Morphin und Chelidonin in natürlichen Gemischen. *Arzneimittel-Forschung*, 1954, **4**, p. 450-453.

37. GUILLAUME (A.) et PROESCHEL (Mlle A.). — Etude comparative de quelques méthodes chimiques de titrage de la spartéine dans le genêt et ses préparations galéniques, et dans le lupin. *Bull. Sc. pharmacol.*, 1938, **45**, p. 255-264.
38. HAGEN (M.). — Ueber das Lupanin, ein Alkaloid aus dem Samen der blauen Lupine, *Lupinus angustifolius*. *Ann. Chem.*, 1885, **230**, p. 367-384.
39. HANSEL (R.). — Papierchromatographie Zellsaftlösliche Pigmente, in *Papierchromatographie in der Botanik*. Springer, ed. Berlin, 1955.
40. HASHIMOTO (Y.), MORI (I.) et KIMURA (M.). — Paper Electromigration of Flavonoids and Sugars using a high Constant Voltage Current. *Nature (G. B.)*, 1952, **170**, p. 975-976.
41. HAUGAARD (G.) et KRONER (Th.-D.). — Partition Chromatography of Amino Acids with applied Voltage. *J. Am. chem. Soc.*, 1948, **70**, p. 2135-2137.
42. HENRY (T.-A.). — The Plant Alkaloids. J. et A. Churchill ed., 4^e ed., London 1949.
43. HIRT (J.). — Les préparations galéniques du genêt à balais, leur dosage. *J. Pharm. Chim.*, 1929, **10**, p. 145-161.
44. HUSEMANN (A.). — Ueber das Cytisin. *Z. Chem. Pharm.*, 1869, **12**, p. 677-680.
45. HUSEMANN (A.) et MARMÉ (W.). — Vorläufige Mittheilung über Cytisin und Laburnin, zwei neue Pflanzenbasen in *Cytisus Laburnum*. *Z. Chem. Pharm.*, 1865, **8**, p. 161-162.
46. ING (H.-R.). — The Alkaloids of *Anagyris foetida* and their Relation to the Lupin Alkaloids. *J. Chem. Soc.*, 1933, p. 504-510.
47. ING (H.-R.). — Cytisin. Part II. *J. Chem. Soc.*, 1932, p. 2778-2780.
48. JAMINET (G.). — Contribution à l'étude biochimique du genêt à balais (*Sarothamnus scoparius* K.). II. Au sujet de la dégradation de la spartéine dans les graines en voie de maturation. *J. Pharm. Belg.*, 1954, **9**, p. 9-19.
49. JAMINET (F.). — Contribution à l'étude biochimique du genêt à balais (*Sarothamnus scoparius* K.). I. Les amines vasoconstrictrices. *J. Pharm. Belg.*, 1953, **8**, p. 23-35.
50. JOLIVET (R.). — Contribution à l'étude des genêts indigènes. *Thèse Doct. Univ. (Pharm.)*, Paris, 1925.
51. JORISSEN (M.-A.). — Sur une réaction de la spartéine. *J. Pharm. Chim.*, 1911 [7], **4**, p. 251-252.
52. KARIYONE (P.), HASHIMOTO (Y.), MORI (I.) et KIMURA (M.). — Microchemical Studies of Plant Components : Paper Electromigration and Paper Chromatography of Organic Bases. *J. Pharm. Soc. Japan*, 1953, **73**, p. 808-809 et 1095.
53. KÖENIG (P.). — Actas e trabalhos do terceiro congresso sud-americano de chimica, Rio de Janeiro e São Paulo 1937, **2**, p. 334. in BLOCK : A Manual of Paper Chromatography and Paper Electrophoresis (v. ref. 7).
54. KARRER (P.), CANAL (F.), ZÖHNER (K.) et WIDMER (R.). — Ueber Lupinin. *Helv. Chim. Acta*, 1928, **11**, p. 1062-1084.

55. KARRER (P.) et VOGT (A.). — Zur Kenntnis des Lupinins. *Helv. Chim. Acta*, 1930, **13**, p. 1073-1077.
56. LEBEAU (P.) et collaborateurs. — Traité de Pharmacie chimique, p. 3531. Masson éd., 3^e éd., Paris, 1947.
57. LECOQ (H.). — Etude de la constitution moléculaire de la cytosine, preuve de la structure pyridocolique de cet alcaloïde. *Bull. Soc. Chim.* 1943, **10**, p. 153-160.
58. LOTHÉLIER (A.). — Influence de l'état hygrométrique et de l'éclairement sur les tiges et les feuilles des plantes à piquants. *Thèse Doct. Sc. nat.*, Paris, 1893.
59. MACHEBŒUF (M.), REBEYROTTE (P.), DUBERT (J.-M.) et BRUNERIE (Mlle M.). — Microélectrophorèse sur papier avec évaporation continue du solvant (électrorhéophorèse). *Bull. Soc. Chim. biol.* 1953, **35**, p. 334-345.
60. MARIANI (A.). — Application de l'ionophorèse à la séparation des alcaloïdes de l'opium. *Pharm. Weekbl.*, 1955, n° 4, p. 97-144.
61. MANSKE (R.-H.-F.). — The Alkaloids. Academic press inc. éd., New-York, 1953, III, p. 119-199.
62. MARION (L.) et LÉONARD (N.-J.). — The Papilionaceous Alkaloids XI : Identity of Genisteine with L- α -isoparteine. *Can. J. Chem.* 1951, **29**, p. 297-300.
63. MARION (L.) et LÉONARD (N.-J.). — The Synthesis of dehydrolupanines and the Stereochemistry of the C₁₅ Lupine Alkaloids. *Can. J. Chem.* 1951, **29**, p. 355-362.
64. MASCRÉ (M.) et PARIS (R.). — Recherches sur le scoparoside (= scoparine) du *Sarothamnus scoparius* Koch. *Bull. Sc. pharmacol.* 1937, **44**, p. 401-415.
65. MILLS (E.-J.). — Ueber Spartein. *Ann. Chem.* 1863, **125**, p. 71-78.
66. MONNIER (L.). — Recherches sur les *Ulex*. *Thèse Doct. Univ. (Pharm.)*, Paris, 1909.
67. MOUREU (Ch.) et VALEUR (A.). — Sur la spartéine. *C. R. Ac. Sc.*, 1907, **145**, p. 1184-1185 ; 1905, **140**, p. 1601-1603 et 1645-1647. Sur l'isopartéine d°, 1911, **152**, p. 527-529.
68. MUNIER (R.) et MACHEBŒUF (M.). — Microchromatographie de partage des alcaloïdes et de diverses bases azotées biologiques. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1949, **31**, p. 1144-1162 ; 1952, **34**, p. 204-214.
69. NORKINA (S.-S.), NARKUSSIEV (T.) et OREKHOV (A.-P.). — *J. Gen. Chem. URSS*, 1937, **7**, p. 906 (in MANSKE The Alkaloids).
70. PARIS (R.). — Sur les pigments jaunes des fleurs d'Ajonc (*Ulex europaeus* L.). *Ann. pharm. fr.*, 1951, **9**, p. 642-647.
71. PARIS (R.). — Les pigments flavoniques. *Prod. pharm.*, 1951, **6**, p. 543-613.
- 71 bis. PARIS (R.). — Chromatographie sur papier de quelques dérivés flavoniques. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 1952, **34**, p. 767.
72. PARIS (P.) et BEAUQUESNE (Mlle L.). — Les dérivés flavoniques. *Ann. pharm. fr.*, 1950, **8**, p. 65-67 ; 148-152 ; 228-236 ; 322-342.
73. PARIS (R.) et CORNILLEAU (Mlle J.). — Caractérisation et dosage des dérivés flavoniques. *Ann. pharm. fr.*, 1955, **13**, p. 192-199.

74. PARIS (R.) et FAUGERAS (G.). — Application de l'électrophorèse à la séparation des alcaloïdes et des dérivés flavoniques chez quelques Légumineuses. *Ann. pharm. fr.*, 1955, **13**, p. 359-368.
75. PARTHEIL (A.). — Ueber Cytisin und Ulexin. *Arch. Pharm.*, 1892, **230**, p. 448-498.
76. PENISTON (O.-P.), AGAR (H.-D.) et MC CARTHY (J.-L.). — Ionophoretic Analyses in Agar Gels. *Anal. Chem.*, 1951, **23**, p. 994-999.
77. PERKIN (A.-G.), et NEWBURY (F.-G.). — Coloring matters and dying properties of *Genista tinctoria*. *J. Chem. Soc.*, 1899, p. 179.
78. PLUGGE (P.-C.) et RAUWERDA (A.). — Vorkommen von Cytisin in verschiedenen Papilionaceae. *Arch. Pharm.* 1896, **234**, p. 685-697.
79. POEHM (M.) et GALINOVSKY (F.). — Ueber das Vorkommen von N-Methyl Cytisin in *Cytisus Laburnum* L.. Papierchromatographische Trennung von Cytisin, N-Methylcytisin und Anagyrin. *Monatsh. Chem.*, 1953, **84**, p. 1197-1200.
80. POWER (F.-B.) et SALWAY (A.-H.). — The Constituents of the Rhizome and Roots of *Caulophyllum thalictroides*. *J. Chem. Soc.*, 1913, p. 194-197.
81. RIBAS (I.) et ALONSO DE LAMA (J.-M.). — Alcaloides del *Adenocarpus Hispanicus* D.C. de la Sierra de Guadarrama. *Farmacognosia* 1954, **13**, p. 367-374.
82. RIBAS (I.) et BASANTA (J.-L.). — Alcaloides de Leguminosas XIV. Alcaloides del *Ulex europaeus* L. *An. Soc. españ. fis. y quim.*, 1952, **48** B, p. 161-166.
83. RIBAS (I.), et BASANTA (J.-L.). — Alcaloides de Leguminosas XV. Alcaloides del *Ulex nanus* Forst. (Smith). *An. Soc. españ. fis. y quim.*, 1952, **48** B, p. 167-168.
84. RIBAS (I.) et COSTA (L.). — Sur les alcaloides de l'*Adenocarpus commutatus* Guss. *Ann. pharm. fr.*, 1952, **10**, p. 54-61.
85. RIBAS (I.), GUITIAN (R.) et TALADRID (P.). — Alcaloides de las Papilionaceas XII. Sobre la estructura de la adenocarpina. *An. soc. españ. fis. y quim.*, 1951, **47**, p. 715-724.
86. SCHMIDT (E.). — Ueber die Alkaloide der Samen von *Anagyris foetida*. *Arch. Pharm.*, 1900, **238**, p. 184-191.
87. SCHNEIDER (G.) et WUNDERLY (Ch.). — *Schweiz. med. Woch.*, 1952, **82**, p. 445, d'après WUNDERLY (réf. 105).
88. SCHOLZ (E.) et HAGEDORN (P.). — Untersuchung von Arzneimittelgemischen mittels Papierelektrophorese. *Dtsch. Apoth. Ztg., Süd. Apoth. Ztg.* 1953, **93**, p. 81-82.
89. SEOANE (C.) et RIBAS (I.). — Alcaloides del *Spartium junceum*. *An. Soc. españ. fis y quim.*, 1951, **47** B, p. 625-638.
90. SIEBERT (C.). — Ueber das Lupanin, das Alkaloid der blauen Lupine. *Arch. Pharm.*, 1891, **229**, p. 531-546.
91. SPAETH (E.) et GALINOVSKY (F.). — Die Konstitution des Cytisins. *Ber. dtsh. chem. Gesellsch.*, 1932, **65**, p. 1526-1535; 1933, **66**, p. 1338-1344.

92. STENHOUSE (J.). — Ueber die Wirkung von Salpetersäure auf verschiedenen Vegetabilien, nebst einer näheren Untersuchung von *Spartium scoparium* Linn. *Ann. Chem.*, 1851, **78**, p. 1-30.
 93. TISELIUS (A.). — *Trans. Faraday Soc.*, 1937, **33**, p. 524.
 94. TURNER (R.-G.). — The Starch-iodide Reaction : Stability and Proportionality of Color produced by small Amounts of Iodine. *J. am. chem. Soc.*, 1930, **52**, p. 2768-2773.
 95. UENO (M.). — Ueber die Konstitution des Oxylupanin. *J. pharm. Soc. Jap.*, 1930, **50**, p. 68-71 et 435-442.
 96. VALEUR (A.). — Sur la présence d'un alcaloïde fixe dans le genêt à balais. *C. R. Ac. Sc.*, 1918, **167**, p. 26-28.
 97. VALEUR (A.). — Sur un nouvel alcaloïde volatil du genêt à balais. *C. R. Ac. Sc.*, 1918, **167**, p. 163-164.
 98. VEGA (J.), DOMINGUEZ (J.) et RIBAS (I.). — Alcaloides de las Papilionaceas XXV. Estructura de los alcaloides adenocarpina y orensina. *An. Soc. Españ. Fis. quim.*, 1954, **50** B, p. 895-900.
 99. WALZ (E.). — Isoflavon- und Saponin-Glucoside in *Soja hispida*. *Ann. Chem.*, 1931, **489**, p. 118-155.
 100. WENDER (S.-H.) et GAGE (T.-B.). — Paper-Chromatography of Flavonoid Pigments. *Science*, 1949, **109**, p. 287-289.
 101. WHITE (E.-P.). — Alkaloids of Leguminosae. *New Zealand J. Sc. Technol.*, 1943, **25** B, p. 93-114.
 102. WHITE (E.-P.). — Alkaloids of the Leguminosae. XX. Alkaloids of *Genista sagittalis* and *Genista tinctoria*. *New Zealand J. Sc. Technol.*, 1951, **33** B, n° 1, p. 47-49.
 103. WILLSTAETTER (R.) et FOURNEAU (E.). — Ueber Lupinin. *Ber. dtsh. chem. Geellsch.*, 1902, **35**, p. 1910-1926.
 104. WINTERFELD (K.) et VON COSEL (H.). — Synthese des razem. Lupinins. *Arch. Pharm.*, 1940, **278**, p. 70-81.
 105. WUNDERLY (Ch.). — Die Papierelektrophorese. H. R. Saderlander et C^{ie}, éd., Aarau et Frankfurt a/Main, 1954.
-

PLAN DU TRAVAIL

INTRODUCTION	9
--------------------	---

PREMIÈRE PARTIE

GÉNÉRALITÉS SUR LES GÉNISTÉES INDIGÈNES

Chapitre I : Place en systématique végétale et classification de la tribu	11
Chapitre II : Composition chimique	15
A — Alcaloïdes — Historique	15
Classification	16
I) Alcaloïdes dérivant du nor-lupinane	17
a) Alcaloïdes saturés	17
b) Alcaloïdes insaturés	23
II) Alcaloïdes à noyau dipipéridique	25
III) Alcaloïdes de structures diverses	26
B — Flavonoïdes : Généralités	26
— Flavonoïdes des Génistées indigènes	28

DEUXIÈME PARTIE

ÉLECTROPHORÈSE : TECHNIQUES UTILISÉES

Chapitre I : Généralités sur l'électrophorèse : A — Historique	31
B — L'électrorhéophorèse	32
Chapitre II : Application aux alcaloïdes des Génistées :	
A — Historique	36
B — Particularités techniques de l'électrophorèse des alcaloïdes	37
1) Conditions expérimentales	37
2) Révélation des spots :	
— Réaction de DRAGENDORFF'	37
— Réaction à l'iode et à l'amidon	39
— Réactions particulières	40
3) Action de différents facteurs	41
4) Résultats	44
Technique proposée	47
C — Évaluation de la teneur en alcaloïdes des spots :	
1) Principe	48
2) Technique : a — Etalonnage	49
b — Evaluation des alcaloïdes d'une plante	53
Chapitre III : Application aux flavonoïdes des Génistées :	
A — Historique	55
B — Particularités techniques de l'électrophorèse des flavonoïdes.	
a — Electrophorèse sur papier	55
1) Conditions expérimentales	55
2) Révélation des spots	56
3) Action de différents facteurs	57
b — Electrophorèse en gélose	59
C — Essai d'évaluation de la teneur en flavonoïdes des spots	61

TROISIÈME PARTIE

APPLICATION DES TECHNIQUES PROPOSÉES A L'ÉTUDE
DES ALCALOÏDES ET DES FLAVONOÏDES DE QUELQUES
GÉNISTÉES INDIGÈNES.

Chapitre I : Étude du genre <i>Sarothamnus</i> : <i>Sarothamnus scoparius</i> K. . .	63
1) Caractères botaniques	63
2) Étude des alcaloïdes — Historique	64
a — Matériel d'étude et conditions d'expérience	64
b — Répartition des alcaloïdes dans les divers organes de la plante	65
— Etude qualitative	65
— Etude quantitative	68
c — Variations au cours de la végétation :	
— Variations de la teneur en spartéine des tiges	69
— Transformation du contenu alcaloïdique au cours de la formation et de la maturation du fruit	71
Conclusions	71
3) Etude des flavonoïdes — Historique	73
a — Matériel d'étude	73
b — Répartition des flavonoïdes dans les divers organes de la plante	74
4) Conclusions	76
Chapitre II : Étude du genre <i>Genista</i> :	
A — <i>Genista</i> non épineux :	
I. <i>Genista purgans</i> L.	77
1) Caractères botaniques	77
2) Étude des alcaloïdes — Historique	78
a — Matériel d'étude et conditions d'expé- rience	78
b — Répartition des alcaloïdes dans les divers organes de la plante	78
c — Variations du contenu alcaloïdique au cours de la végétation	80
— Variations de la teneur en spartéine des tiges	80
— Transformation du contenu alcaloïdi- que au cours de la formation et de la maturation du fruit	80
3) Etude des flavonoïdes. — Historique	81
a — Matériel d'étude	81
b — Résultats	81
4) Conclusions	82
II. <i>Genista tinctoria</i> L. :	
1) Caractères botaniques	82
2) Etude des alcaloïdes — Historique	83
a — Matériel d'étude et conditions d'expé- rience	83
b — Répartition des alcaloïdes dans les divers organes de la plante :	
— Étude qualitative	83
— Étude quantitative	84
3) Etude des flavonoïdes :	
a — Matériel d'étude et conditions d'expé- rience	85
b — Résultats	86
4) Conclusions	86
III. <i>Genista sagittalis</i> L.	87
B — <i>Genista</i> épineux	87

Chapitre III : Étude du genre <i>Spartium</i> : <i>Spartium junceum</i> L.	89
1) Caractères botaniques	89
2) Étude des alcaloïdes : Historique	89
a — Matériel d'étude et conditions d'expérience....	90
b — Répartition des alcaloïdes dans les divers organes de la plante	90
— Étude qualitative	90
— Étude quantitative	91
3) Étude des flavonoïdes	91
4) Conclusions	92
Chapitre IV : Étude du genre <i>Cytisus</i> : <i>Cytisus Laburnum</i> L.	93
1) Caractères botaniques	93
2) Étude des alcaloïdes : Historique	93
a — Matériel d'étude et conditions d'expérience	94
b — Répartition des alcaloïdes dans les divers organes de la plante	94
— Étude qualitative	94
— Étude quantitative	94
3) Étude des flavonoïdes	95
4) Conclusions	95
Chapitre V : Étude du genre <i>Ulex</i> :	
— Caractères botaniques :	96
I. <i>Ulex europaeus</i> L.	
1) Étude des alcaloïdes : Historique	96
a — Matériel d'étude et conditions d'expé- rience	97
b — Répartition des alcaloïdes dans les divers organes de la plante	97
— Étude qualitative	97
— Étude quantitative : modifications du contenu alcaloïdique au cours de la maturation du fruit	98
2) Étude des flavonoïdes	100
3) Conclusions	102
II. <i>Ulex nanus</i> Forst.	
1) Étude des alcaloïdes : Historique	103
a — Matériel d'étude et conditions d'expé- rience	103
b — Répartition des alcaloïdes dans les divers organes de la plante	103
— Étude qualitative	103
— Étude quantitative	103
2) Étude des flavonoïdes	104
3) Conclusions	105
CONCLUSIONS GÉNÉRALES	107
INDEX BIBLIOGRAPHIQUE	111

DEUXIÈME THÈSE

PROPOSITION DONNÉE PAR LA FACULTÉ :

Métabolisme des hétérosides chez les végétaux.

Vu et approuvé :

Le Doyen

R. FABRE

Vu et permis d'imprimer :

Le Recteur,

J. SARRAILH

